UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

AVALIAÇÃO DE TUBO METÁLICO COMO ATOMIZADOR NA TÉCNICA DE HG-AAS: ANÁLISE DE PARÂMETROS ANALÍTICOS E MORFOLÓGICOS

Aline Klassen

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Campinas – São Paulo
Agosto de 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

Klassen, Aline.
K666a Avaliação de tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: análise de parâmetros analíticos e morfológicos / Aline Klassen. -- Campinas, SP: [s.n], 2007.

Orientador: Marco Aurélio Zezzi Arruda.

Dissertação - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. HG-AAS. 2. Atomizador metálico. 3. Micrografias. I. Arruda, Marco Aurélio Zezzi. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Evaluation of metallic tube as atomizer in the HG-AAS technique: analysis of analytical and morphological parameters

Palavras-chaves em inglês: HG-AAS (Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry), Metallic atomizer, Micrography

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na Área de Química Analítica

Banca examinadora: Marco Aurélio Zezzi Arruda (orientador), Maria Goreti Rodrigues Vale (IQ-UFRGS), Anne Hélène Fostier (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 01/08/2007

Dedico esta Dissertação aos meus queridos pais Anselmo e Inácia e ao meu companheiro de todos os momentos Roberto.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus por ter sempre me dado força e ânimo para não desistir nas primeiras dificuldades.

Gostaria de agradecer também a Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP e ao instituto de Química por ter me possibilitado a realização dessa Dissertação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, por ter me concedido a bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela orientação e apoio durante esse período.

Agradeço a todos os professores que me incentivaram a persistir nos estudos, em especial a Escola Estadual Santos Dumond e à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial às professoras Maria Goreti Rodrigues Vale e Márcia Messias da Silva, por sempre me incentivarem a seguir a vida acadêmica com responsabilidade.

Agradeço à todos os funcionários do Instituto de Química por colaborarem com a realização desse trabalho, em especial ao Mário da oficina mecânica. Também, gostaria de agradecer ao Químico Daniel pela realização das micrografias, e ao Leonardo pelas análises no microscópio de transmissão.

Aos grandes amigos do Grupo GEPAM, Aline S. Lopes, Adilson, Alessandra, Alexandrina, Américo, Ana Cristi, Cristiana, Eduardo (a este um agradecimento especial), Eraldo, Fabiana, Geraldo, Herbert, Jerusa, Luciana, Marcelo, Marcel, Márcia, Nathália, Pedro e Renata pelo ótimo convívio no laboratório e, por de alguma forma terem colaborado para o término dessa dissertação de mestrado.

Aos colegas de laboratório: André, Profa. Dra Anne Hélène Fostier, Ariane, Danilo, Fabiane, Prof. Dr. José Alberto Fracassi, Gabriela, Paula e Socorro, sempre pelo agradável convívio no laboratório.

Aos meus amigos Anderson, Édler, Elaine, Ivanildo, Marcelo, Mariana, Raquel, Sylvia, e os amigos do Rio Grande do Sul que sempre mostraram apoio, carinho, amizade e companheirismo.

Também, a minha amiga Isabel, pelas agradáveis conversas à distância, também, sempre por dar conselhos certos e na hora certa.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma colaboraram para o desfecho dessa Dissertação.

CURRICULUM VITAE

Dados Pessoais

Aline Klassen
Brasileiro, Natural de São Martinho – RS, 03/04/1978
e-mail:alineklassen@yahoo.com.br

Formação Acadêmica

03/2005 – 08/2007 Mestrado e Química Analítica
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP, Brasil.

03/1999 – 03/2004 Bacharelado em Química
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre – RS, Brasil.

Prêmio

15/03/2002 Prêmio de trabalho destaque apresentado no XIII Salão de Iniciação Científica promovido pela pré-Reitoria de Pesquisa/PROPESQ da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

14/03/2004 Prêmio de aluno destaque do Curso de Bacharelado em Química Conselho Regional de Química V Região – CRQ-V, Porto Alegre – RS, Brasil.

Produção Científica

Artigos Publicados

Vale, M.G.R.; **Klassen, A.**; Welz, B.; Ferreira, I.C.S.; Silva, M.M.; Silva, A.F.; Lepri, F.G.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U., *Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry*, **Microchem. Journal, 2004,** 77, 131-140.

Silva, A.F.; Borges, D.L.G.; Welz, B.; Vale, M.G.R.; **Klassen, A**.; Silva, M.M.; Heitmann, U., *Method development for the determination of thallium in coal using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry with continuum source, high-resolution monochromator and CCD array detector*. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy, 2004,** 59, 841-850.

Trabalhos apresentados em eventos

Klassen, A.; Figueiredo, E.C.; Arruda, M.A.Z., *Estudo de alguns parâmetros do atomizador para determinação de arsênio por HG-AAS* - apresentação Oral. In: 13º ENQA, 2005, Niterói - RJ. CD, 2005.

Damin, I.C.F.; **Klassen, A**.; Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; Welz, B.; Silva, A.F.; Lepri, F.G.; Borges, D.L. G.; Heitmann, U., Detection of volatile nickel compounds in petroleum using high - resolution continuum source grafite furnace aas. in: 8th rio symposium on atomic spectrometry, **2004**, Parati - RJ. p. 46.

Vale, M.G.; Silva, M.M.; Damim, I.C.F.; **Klassen, A**.; Jesus, A., Determinação de níquel em petróleo por GFAAS: Emulsão X Diluição com Solvente. In: 12º Encontro Nacional de Química Analítica, **2003**, São Luís. 12º Encontro Nacional de química Analítica.

Klassen, A.; Damim, I.C.F.; Jesus, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.; Welz, B.; Silva, A.F., Determinação de Tálio em carvão usando amostragem sólida em GFAAS com fonte de linha e fonte contínua. In: 12º Encontro Nacional de Química Analítica, 2003, São Luís.

Klassen, A.; Damim, I.C.F.; Jesus, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R., Comparação entre o método de emulsificação e diluição com solvente para determinação de níquel em petróleo por GFAAS. In: XV Salão de Iniciação Científica, 2003, Porto Alegre.

Klassen, A.; Jesus, A.; Ferreira, I.C.S.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Welz, B., Determinação direta de chumbo em amostras de petróleo por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. In: Sociedade Brasileira de Química- 26º Reunião Anual, 2003, Poços de Caldas.

Jesus, A.; Damin, I.C.F.; **Klassen, A**.; Vale, M.G.R.; Silva, M.M., Análise Direta de Petróleo por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite: Determinação de Chumbo. In: XV Salão de Iniciação Científica, 2003, Porto Alegre.

Sanchez, F.A.L; **Klassen, A.**; Bianchin, L.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R., Uso do Forno com Filtro para minimizar interferências na determinação de metais traço em matrizes complexas por GF AAS. In: XV Salão de Iniciação Científica, 2003, Porto Alegre.

Klassen, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.; Welz, B.; Damin, I.C.F.; Silva, L.O., Investigation of Chemical Modifiers for the Determination of Thallium in Coal Using Solid Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. In: Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2002, Florianópolis. p. 149.

Klassen, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R; Welz, B; Ferreira, I.C.S.; Maia, S.M., Optimization of Solid Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometric Determination of Cadmium in Soil Samples. In: Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2002, Florianópolis. p. 81.

Klassen, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Damim, I.C.F.; Silva, L.O., O uso de modificadores químicos em análise de amostras sólidas por espectrometria de absorsão atômica em forno de grafite: determinação de cádmio em solos. In: 25a reunião anual da Socidade Brasileira de Química, 2002, Poços de Caldas.

Klassen, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Ferreira, I.C.S., Análise Direta de Sólidos por GFAAS: Determinação de chumbo, Cádmio e cobre em Carvão. In: xlll Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2002, Porto Alrgre. p. 83.

Klassen, A.; Ferreira, I.C.S.; Cerviera, R.S.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Mandaji, M., Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Ferro em Amostras de Arroz por GFAAS. In: XLll Congresso Brasileiro de química, 2001, Porto Alegre.

Klassen, A.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Ferreira, I.C.S.; Mandaji, M.; Welz, B., Análise de suspensões por GFAAS: Determinação de ferro em amostras de arroz. In: 11º. Encontro Nacional deQuímica Analítica, 2001, Campinas.

Total de trabalhos apresentados em Congresso: 20
Total de trabalhos apresentados em Congresso Internacional: 2

Participação em eventos

Ciência e arte nas férias, 2007
Workshop de preparo de amostras, 2006
Workshop de Espectrometria atômica, 2006
Total de participação em eventos: 10

Resumo

Avaliação de tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: análise de parâmetros analíticos e morfológicos

Autora: Aline Klassen
Orientador: Marco Aurélio Zezzi Arruda

Nesta Dissertação foi avaliada a eficiência do atomizador metálico (liga INCONEL600®) na técnica de HG-AAS (do inglês, *hydride generation atomic absorption spectrometry*).

A dissertação está dividida em três Capítulos sendo cada um referente ao desenvolvimento da metodologia para determinação de As, Bi e Se, respectivamente.

Foram avaliadas variáveis físicas e químicas por meio do uso de soluções de referência de 50 $\mu g\ L^{-1}$ para As e Bi, e de 400 $\mu g\ L^{-1}$ para Se. Dentre estas variáveis podemos citar: concentração de ácido (exceto no caso do Se, em que a concentração foi mantida em 7 mol L^{-1}), de $NaBH_4$ e de NaOH, comprimento do reator, alça de amostragem, vazão de solução carregadora, vazão de gás de arraste, diâmetro interno do capilar cerâmico entre outros.

Alguns parâmetros analíticos foram obtidos, respectivamente para As, Bi e Se: limite de detecção (LD), (2,3; 0,7; 1,8 $\mu g\ L^{-1}$), desvio padrão relativo (RSD), (5,8; 2,7; 10%) e coeficiente de regressão (R^2), (0,9978; 0,9997; 0,9974). O desvio padrão relativo do método foi baseado nas réplicas das amostras.

Posteriormente, foi realizado um estudo de possíveis concomitantes na determinação de As, Bi e Se. As proporções de analito:concomitante foram baseadas no universo das amostras usadas nesta dissertação para os elementos As e Se. Com esse estudo, pôde ser verificado que a seletividade foi grandemente afetada pela presença de Cu, Fe e Ni, para a determinação de As e Bi, no entanto, para a determinação de Se, os elementos Cu, Bi e As interferiram.

Os testes de exatidão dos métodos propostos foram averiguados por meio do uso de materiais de referência certificados de amostras ambientais, bem como de

interesse medicinal. Os valores encontrados foram concordantes com os valores certificados, segundo um intervalo de confiança de 95% de acordo com o teste *t*.

Após o término do desenvolvimento de cada metodologia, os atomizadores foram cortados em diferentes pontos e foram obtidas algumas micrografias, bem como a composição da liga, por meio do detector de Raios-X.

Com esse estudo foi possível inferir algumas explicações sobre a necessidade da injeção de um padrão concentrado no sistema para determinação de arsênio, bem como a descoberta de nanotubos de carbono na superfície do atomizador empregado na metodologia para determinação de bismuto. A existência de nanotubos de carbono foi confirmada por meio da técnica de TEM.

Esse resultado é interessante, uma vez que o custo dos nanotubos é elevado e o mesmo tem sido empregado em diversas aplicações na Ciência.

Abstract

Evaluation of the metal tube as atomizer in the HG-AAS technique: analysis of analytical and morphological parameters.

Author: Aline Klassen

Adviser: Marco Aurélio Zezzi Arruda

In this work, the metal atomizer (alloy INCONEL600®) efficiency in the HG-AAS technique was evaluated. It was divided into three Chapters, each one referring to the development of methodologies for arsenic, bismuth and selenium.

Physical and chemical variables were evaluated using reference solutions of 50 $\mu g\ L^{-1}$ for As and Bi, and 400 $\mu g\ L^{-1}$ for Se. The evaluated variables were: acid, $NaBH_4$ and NaOH concentration, length of the reaction coil, injected volume, carrier flow rate, argon carrier flow rate, inner diameter of the capillary, among others. The acid concentration for selenium determination was fixed at 7 mol L^{-1}.

After methodology optimization, some analytical parameters were obtained, respectively for As, Bi and Se: limit of detection – LOD, 2.3, 0.7 and 1.8 $\mu g\ L^{-1}$, relative standard deviation – RSD, 5.8, 2.7 and 10% and regression coefficient – R^2, 0.9978, 0.9997 and 0.9974. The RSD of the method was based on As, Bi and Se analytical repeatability from samples. Then, a concomitant study was carried out for As, Bi and Se determination. The analyte:concomitant proportion for As and Se was based on those samples used in this work. This result showed that the presence of Cu, Fe and Ni greatly affected the selectivity for As and Bi, as well as Cu, Bi and As can be considered potential concomitants for Se.

Certified reference materials as well as medical samples were used for checking the accuracy of the proposed methods. By analyzing the results using the *t* test, no statistical difference at the 95% confidence level was found.

After finishing the development of the analytical procedure as well as its application to real samples, each metal atomizer used for each developed methodology was then cut in different parts and morphological as well as X-ray analysis were performed to evaluate the metal distribution on the atomizer.

From this study, some explanation was made about the necessity of the standard solution injection into the system for As determination. Additionally, carbon nanotubes were also found in the atomizer surfaces when it was applied to Bi determination. Its presence was confirmed by the transmission electronic microscopy technique.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS..... xxiii

LISTA DE TABELAS..... xxv

LISTA DE FIGURAS..... xxvii

1. INTRODUÇÃO GERAL..... 1

1.1. HIPÓTESE E OBJETIVO..... 3

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 4

2.1. TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS DE ANÁLISE..... 4

2.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETO (HG-AAS)..... 5

2.3. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM TUBO NA CHAMA E SPRAY TÉRMICO..... 11

2.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA..... 15

Capítulo 1: Tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: determinação de Arsênio..... 19

1. OBJETIVO..... 21

2. INTRODUÇÃO..... 22

3. PARTE EXPERIMENTAL..... 24

3.1. INSTRUMENTAÇÃO..... 24

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS..... 24

3.2.1. DESCRIÇÃO DO SISTEMA..... 25

3.3. LEITURAS DA TEMPERATURA DO ATOMIZADOR DE LIGA METÁLICA..... 27

3.4. MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES……..... 28

3.5. TESTE DE EXATIDÃO……..... 28

3.6. PREPARO DAS AMOSTRAS……..... 29

3.6.1. AMOSTRAS DE TECIDO ANIMAL..... 29

3.6.2. AMOSTRA DE SEDIMENTO DE RIO……..... 29

3.7. DESEMPENHO ANALÍTICO……..... 30

3.8. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO…..... 30

3.9. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……..... 31

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 32

4.1. NATUREZA DO TUBO METÁLICO……..... 32

4.2. ESTUDO DA ESTABILIZAÇÃO DA TEMPERATURA DO ATOMIZADOR INCONEL600®..... 35

4.3. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO……..... 35

4.3.1. OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS..... 35

4.3.1.1. Influência do volume injetado no sistema..... 36

4.3.1.2. Influência da vazão do carregador……..... 36

4.3.1.3.Influência do comprimento da bobina de reação……..... 37

4.3.1.4. Influência das proporções de ar-acetileno……..... 38

4.3.1.5. Influência da vazão de gás de arraste……..... 40

4.3.1.6. Influência do diâmetro interno do capilar……..... 40

4.3.1.7. Influência da vazão de nebulização de água desionizada..... 41

4.3.1.8. Otimização da área total de furos do atomizador INCONEL600®.... 42

4.3.2. OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS……..... 44

4.3.2.1. influência da natureza do ácido……..... 44

4.3.2.2. Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio …..... 45

4.3.2.3. Influência da concentração de hidróxido de sódio……..... 46

4.4. DESEMPENHO ANALÍTICO……..... 47

4.5. AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES ……..... 48

4.6. TESTE DE EXATIDÃO PARA O MÉTODO PROPOSTO PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO……..... 50

4.7. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……..... 51

5. CONCLUSÃO PARCIAL……..... 59

CAPÍTULO 2: Tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: determinação de Bismuto..... 61

1. OBJETIVO..... 63

2. INTRODUÇÃO..... 64

3. PARTE EXPERIMENTAL..... 65

3.1. INSTRUMENTAÇÃO……..... 65

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS..... 65

3.3 MATERIAIS, REAGENTES, SOLUÇÕES……..... 65

3.4 TESTE DE EXATIDÃO……..... 66

3.5 PREPARO DAS AMOSTRAS……..... 66

3.5.1 AMOSTRAS DE ANTIÁCIDO ……..... 66

3.5.2 AMOSTRAS DE LIGA DE AÇO……..... 67

3.6 DESEMPENHO ANALÍTICO……..... 68

3.7. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO..... 68

3.8. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……..... 69

3.8.1 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA A SEM E A MET..... 69

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 69

4.1. NATUREZA DO TUBO METÁLICO……..... 69

4.2. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE BISMUTO……..... 71

4.2.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS ……..... 71

4.2.1.1. Influência do volume injetado no sistema……..... 71

4.2.1.2. Influência da vazão de carregador……..... 72

4.2.1.3. Influência da vazão de argônio……..... 73

4.2.1.4. Influência do comprimento da bobina de reação……..... 74

4.2.1.5. Influência do diâmetro interno do capilar……..... 75

4.2.1.6. Influência da vazão de nebulização de água desionizada…..... 76

4.2.1.7. Influência da proporção de ar-acetileno..... 77

4.2.1.8. Influência da área total de furos do atomizador INCONEL600®..... 78

4.2.2. INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DE BISMUTO……..... 79

4.2.2.1. Influência da natureza de ácido……..... 79

4.2.2.2. Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio e de hidróxido de sódio..... 80

4.3. DESEMPENHO ANALÍTICO……..... 81

4.4. AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES..... 82

4.4.1. AVALIAÇÃO DOS MASCARANTES……..... 86

4.5. TESTE DE EXATIDÃO……..... 87

4.6. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……..... 89

5. CONCLUSÃO PARCIAL..... 101

Capítulo 3: Tubo metálico como atomizador na técnica HG-AAS: determinação de Selênio..... 103

1. OBJETIVO…….. 105

2. INTRODUÇÃO…….. 106

3. PARTE EXPERIMENTAL..... 108

3.1. INSTRUMENTAÇÃO……..... 108

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS……. 108

3.3. MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES…… 108

3.4. TESTE DE EXATIDÃO……..... 109

3.5. PREPARO DAS AMOSTRAS……..... 109

3.5.1 SEDIMENTO MARINHO..... 109

3.5.2. AMOSTRA DE CABELO HUMANO……..... 110

3.5.3. AMOSTRA DE URINA…… 111

3.6 DESEMPENHO ANALÍTICO……..... 111

3.7. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO……... 111

3.8. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……..... 112

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 113

4.1. TESTES COM O ATOMIZADOR DE NÍQUEL E LIGA INCONEL600®..... 113

4.2. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO..... 113

4.2.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS……..... 113

4.2.1.1 Influência do volume injetado no sistema..... 114

4.2.1.2. Influência do comprimento da bobina de reação……..... 114

4.2.1.3. Influência da vazão de gás de arraste argônio……..... 115

4.2.1.4.Influência da vazão do carregador……..... 116

4.2.1.5 Influência da vazão de nebulização de água desionizada…… 117

4.2.1.6 Influência do diâmetro interno do capilar……..... 118

4.2.1.7 Influência da área total de furos do atomizador INCONEL600®……. 118

4.2.1.8 Influência da proporção de ar-acetileno..... 118

4.2.2. INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS 120

4.2.2.1 Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio e de hidróxido de sódio…….. 120

4.2.2.2 Influência da natureza do ácido……..... 121

4.3 DESEMPENHO ANALÍTICO…… 122

4.4. AVALIAÇÃO DOS CONCOMITANTES……. 123

4.5. TESTE DE EXATIDÃO……... 125

4.6. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO……. 125

5. CONCLUSÃO PARCIAL……..... 131

CONCLUSÕES FINAIS..... 132

BIBLIOGRAFIA..... 134

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AA – Absorção atômica - do inglês, Atomic absorption.

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica – do inglês, *Atomic Absorption Spectrometry.*

A – área do furo.

ca. – cerca de.

BG – Correção de fundo – do inglês, background correction.

CF – Fluxo Contínuo – do inglês, *Continuous Flow.*

d – Diâmetro.

d.i. – Diâmetro interno.

d.e. – Diâmetro externo.

eV – elétron volts.

ET AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica – do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry.*

EPA – Agência de Proteção Ambiental – do inglês, *Environmental Protection Agency*.

F – Parâmetro estatístico *F*.

F AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama – do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*.

FI – Injeção em Fluxo – do inglês, *flow injection.*

FIA – Análise por Injeção em Fluxo – do inglês, *Flow Injection Analysis.*

FI-HG – Geração de Hidretos com Injeção em Fluxo – do inglês, *Flow Injection – Hydride Generation*.

FNB (US) – Comissão de Nutrição e Alimento (Estados Unidos) – do inglês, Food and Nutrition Board (United States).

GF AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite – do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.*

HG-AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos – do inglês, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*.

ICP OES – Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado. – do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.*

ICP-MS – Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado - do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.*

IUPAC – do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry.*

l – comprimento do furo.

Laser – Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de radiação – do inglês, *Light. Amplification by Stimulated Emission of Radiation*.

LD – Limite de detecção – do inglês, *limit of detection.*

LED – Diodo emissor de luz – do inglês, *Light Emitthing Diode*.

LQ – Limite de Quantificação – *do inglês, limit of quantification.*

MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura.

µs – microsegundos.

PP – Polipropileno.

QTA – Atomizador Tubo de Quartzo – do inglês, *quartz tube atomizer.*

PUF – Espuma de poliuretano – do inglês, *polyurethane foam.*

r – raio.

R^2 – Coeficiente de regressão.

RDA – Dieta Recomendada Permitida – do inglês, R*ecommended Dietary Allowance.*

RSD – Desvio padrão relativo.

SEM – Microscopia Eletrônica de Varredura – do inglês, *Scanning Electron Microscopy.*

s – segundos.

σ – desvio padrão amostral.

t – Parâmetro estatístico *t* de Student.

TEM – Microscopia Eletrônica de Transmissão – do inglês, *Transmition Electron Microscopy.*

THB – Tetrahidroborato – do inglês, *tetrahydroborate.*

TS-FF-AAS – Espectrometria de Absorção Atômica baseada em tubo na chama e *Spray Térmico* – do inglês, *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry.*

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Página

Tabela 1: Composição da liga metálica INCONEL600® empregada para confecção do atomizador……..... 26

Tabela 2: Diferentes áreas estudadas, de um furo e áreas totais dos furos do atomizador..... 27

Tabela 3: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de sedimento de rio. Programa adaptado de Ribeiro *et al.* [73]…….. 30

Tabela 4: Variáveis estudadas para determinação de As……..... 31

Tabela 5: Influência da natureza dos ácidos na formação de arsina. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, 1% (m/v) $NaBH_4$, 0,8%, (m/v) NaOH..... 44

Tabela 6: Parâmetros analíticos após a otimização do método..... 48

Tabela 7: Carta de seletividade para a determinação de As 50 μg L^{-1}..... 50

Tabela 8: Resultados da quantificação de As nos materiais certificados obtidos pelo método proposto, (n=3)……..... 51

Capítulo 2

Tabela 9: Programa para a decomposição assistida por radiação microonda para a amostra bisuisan..... 67

Tabela 10: Variáveis estudadas para determinação de Bi..... 68

Tabela 11: Influência da natureza dos ácidos na formação da bismutina. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v) 80

Tabela 12: Parâmetros analíticos após a otimização do método 81

Tabela 13: Carta de seletividade para a determinação de Bi 50 μg L^{-1}..... 83

Tabela 14: Limites de detecção e quantificação do método antes e depois do teste com o Fe como interferente..... 85

Tabela 15: Estudo de alguns mascarantes para os interferentes Ni, Cu e Ag 87

Tabela 16: Resultados da quantificação de Bi nas diferentes amostras a partir do

método proposto, (n=3)..... 88

Capítulo 3

Tabela 17: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de sedimento marinho..... 110

Tabela 18: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de cabelo humano..... 111

Tabela 19: Variáveis estudadas para determinação de Se..... 112

Tabela 20: Influência da natureza dos ácidos na formação do hidreto de selênio. Condições empregadas: Solução de Se 100 μg L^{-1}, $NaBH_4$1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 122

Tabela 21: Parâmetros analíticos após a otimização do método..... 123

Tabela 22: Figuras de mérito para a determinação de selênio por diferentes técnicas..... 123

Tabela 23: Carta de seletividade para a determinação de Se 100 μg L^{-1}..... 124

Tabela 24: Resultados da quantificação de Se nas diferentes amostras obtidos pelo método proposto, (n=3)..... 125

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Página

Figura 1. Representação esquemática do sistema de geração de hidreto com fluxo continuo. Figura adaptada de Dědina [1]……..... 8

Figura 2. Representação esquemática da técnica TS-FF-AAS. Figura adaptada de Gáspár e Berndt [11]……..... 14

Figura 3: Esquema do sistema de injeção em fluxo, na posição de amostragem. [B] Bomba peristáltica; [C] Solução carregadora (água desionizada, Mil); [P/Am] Solução Padrão ou Amostra; [I] Injetor Comutador; [Al_1-Al_2] alças 1 e 2, respectivamente; [R] redutor tetrahidroborato de sódio, com sistema de recirculação; [x] Ponto de confluência; [D] Descarte; [BR] Bobina de reação; [Ar] Argônio; [CS] Cela de separação; [TM] Tubo de liga metálica…..... 25

Figura 4: Dimensões de um dos seis furos presentes no atomizador INCONEL600®..... 26

Figura 5: Foto do atomizador sobre o queimador do F AAS e as posições de medida de temperatura da parte externa do atomizador metálico……..... 27

Figura 6: Ilustração das diferentes posições do atomizador analisadas pelo microscópio eletrônico de varredura……..... 32
.
Figura 7: Estudo da estabilidade do sinal analítico de As 50 µg L^{-1} após a injeção de um padrão concentrado de As (40 mg L^{-1})..... 34

Figura 8: Estudo da estabilidade da temperatura no tubo INCONEL600®……..... 35

Figura 9: Influência do volume injetado. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)……..... 36

Figura 10: (A) Influência da vazão do carregador, (B) Perfil de sinal a diferentes vazões de carregador. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)……..... 37

Figura 11: Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)……..... 38

Figura 12. Influência das vazões de ar-acetileno. Variação da vazão de acetileno (vazão de ar fixa em 10 L min^{-1}) (—■—); e variação da vazão de ar (vazão de acetileno fixa em 3 L min^{-1}) (—●—). Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)…….....

As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)……..... 39

Figura 13: Influência da vazão de gás de arraste. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)..... 40

Figura 14: (A) Influência do diâmetro interno do capilar, (B) Perfil de sinal analítico com capilar de 0,5 mm ——; 1,0 mm —— e 1,5 mm de d.i. ——. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)..... 41

Figura 15: (A) Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização; (B) Perfil de sinal à uma vazão de 2,0 mL min^{-1}; (C) Perfil de sinal à uma vazão de 3,6 mL min^{-1}. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)…..... 42

Figura 16: (A) Influência da área total de furos do atomizador; (B) Perfil de sinal com atomizador sem furo; (C) Perfil de sinal com atomizador com 43 mm^2 de área total de furos. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v). ……..... 43

Figura 17: Influência da concentração de ácido clorídrico. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v)……..... 45

Figura 18: Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1,44 mol L^{-1}, NaOH 0,8% (m/v)..... 46

Figura 19: Influência da concentração do hidróxido de sódio. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1,44 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,7% (m/v)..... 46

Figura 20: Curva analítica para As, obtida nas condições otimizadas do método… 47

Figura 21: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador, (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x..... 53

Figura 22: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições (A-C) e antes do uso (D)..... 55

Figura 23: Distribuição dos elementos químicos na superfície interna da parte central atrás do atomizador com 2400 determinações. Aumento de 500x..... 56

Figura 24: Distribuição dos elementos químicos na superfície do atomizador sem uso. Aumento de 100x..... 58

Capítulo 2

Figura 25: (A) Perfil de sinal com atomizador de Ni 99,9% (m/m); (B) Perfil de sinal com atomizador de liga Inconel600®. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 70

Figura 26: Perfil de sinal após a injeção de um padrão concentrado de Bi (40 mg L^{-1}) no atomizador de liga INCONEL600®. Condições empregadas: Solução de 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 71

Figura 27: Influência do volume injetado. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 72

Figura 28: (A) Influência da vazão do carregador no sinal analítico; (B) Perfil de sinal com vazão de 6,1mL min^{-1}; (C) Perfil de sinal com vazão de 11,3 mL min^{-1}. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 73

Figura 29: (A) Influência da vazão de gás de arraste Argônio; (B) Perfil de sinal para uma vazão de 35 mL min^{-1}; (C) Perfil de sinal para uma vazão de 150 mL min^{-1}. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 74

Figura 30: Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 75

Figura 31: Influência do d.i. do capilar cerâmico. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$, 0,08% (m/v), NaOH, 0,1% (m/v)..... 75

Figura 32: (A) Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização; (B) Perfil de sinal para uma vazão de 3 mL min^{-1}; (C) Perfil de sinal para uma vazão de 6 mL min^{-1}. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 76

Figura 33: Influência da vazão de ar-acetileno. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 77

Figura 34: (A) Perfis de sinal para diferentes proporções de acetileno-ar. (A) 3:10 L min^{-1}; (B) 4:10 L min^{-1}; (C) 3:8 L min^{-1}; (D) 3:10 L min^{-1}. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)... 78

Figura 35: Influência da área total de furos do atomizador INCONEL®. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 79

Figura 36: Influência da concentração de HCl. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 80

Figura 37: Influência da concentração de $NaBH_4$ e NaOH. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,3 mol L^{-1}..... 81

Figura 38: Curva analítica para Bi obtida nas condições otimizadas do método..... 82

Figura 39: Composição da superfície do atomizador empregado antes do estudo com concomitantes..... 86

Figura 40: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador. (E) Liga INCONEL® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x..... 91

Figura 41: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições..... 93

Figura 42: Região do atomizador (lado direito inferior) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 25x; (B) aumento de 3000x; (C) 5000x; (D) aumento de 10000x..... 94

Figura 43: Região do atomizador (lado direito frontal) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 100x; (B) aumento de 1800x; (C) 1300x; (D) aumento de 10000x... 95

Figura 44: Região do atomizador (parte central superior) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 25x; (B) aumento de 1000x; (C) aumento de 2500x; (D) aumento de 10000x, (E) aumento de 55000x..... 96

Figura 45: Microscopia de nanotubos de carbono obtida por meio da técnica MET. (A) Parte inferior do lado direito do atomizador, (B) Parte central superior do atomizador..... 97
.

Figura 46: Mapeamento elementar por meio da técnica MET, parte inferior do lado direito do atomizador, (A) do carbono (as partes claras são onde há a maior concentração de carbono), (B) do ferro (as setas indicam a concentração de ferro dentro do nanotubo de carbono). 98

Figura 47: Distribuição dos elementos químicos na superfície interna da parte central superior do atomizador. Aumento de 1000x..... 99

Figura 48: Micrografias da fuligem formada no atomizador a diferentes aumentos: (A) 100x; (B) 500x; (C) 1200x; (D) 3000x; (E) 15000x e (F) 20000x (G) Elementos identificados pelo detector de Raios-X na fuligem formada no atomizador..... 100

Capítulo 3

Figura 49*:* Influência dos volumes injetados de amostra e redutor, –▪– Volume de redutor (volume de amostra fixo em 1,6 mL); –•– Volume de amostra (volume de redutor fixo em 1,6 mL). Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 114

Figura 50*:* Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 115

Figura 51*:* (A) Influência da vazão de argônio; (B) Perfis de sinais a diferentes vazões de argônio (10,3 mL min^{-1}; 45,1 mL min^{-1}; 68,2 mL min^{-1}; 127,4 mL min^{-1}; 165,1 mL min^{-1}). Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 116

Figura 52: Influência da vazão de carregador. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v) 117

Figura 53: Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 117

Figura 54: Influência da área total de furos do atomizador. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v) 118

Figura 55: Influência da proporção de gases. –▪–Variação da vazão de ar (vazão de acetileno fixa em 3 L min^{-1}; e –•– variação da vazão de acetileno (vazão de ar fixa em 15 L min^{-1}). Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)..... 120

Figura 56: Curva analítica para Se obtida nas condições otimizadas do método..... 122

Figura 57: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo, central e lado direito do atomizador; (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x..... 127

Figura 58: Micrografia do lado esquerdo parte inferior do atomizador. Aumento de 1500x. As setas indicam a formação de grânulos esbranquiçados..... 128

Figura 59: Distribuição dos elementos químicos em alguns pontos da superfície interna, do lado esquerdo inferior do atomizador..... 129

Figura 60: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições..... 130

1. INTRODUÇÃO GERAL

Há um crescente aumento do monitoramento de elementos em baixas concentrações presentes no meio ambiente ou até mesmo em amostras biológicas, devido à periculosidade dos mesmos. É neste sentido que muitas técnicas analíticas são de grande valia para a quantificação de elementos metálicos. Dentre elas se destacam as técnicas de absorção atômica com chama e com forno de grafite. No entanto, para elementos formadores de hidretos voláteis, a geração de hidretos se destaca, por haver uma separação entre a fase gasosa e líquida, resultando em uma diminuição das interferências inerentes a espectrometria atômica [1].

Neste contexto, muitos trabalhos da literatura apresentam o acoplamento do sistema de geração de hidretos a diferentes técnicas, tais como: GF AAS [2], ICP OES [3] e ICP-MS [4], para a quantificação dos elementos formadores de hidretos. Entretanto, a química analítica tem tentado ampliar as potencialidades da técnica de absorção atômica com chama, com o intuito de apresentar alternativas mais simples, baratas, rápidas e sensíveis, como sistemas de pré-concentração [5], e até mesmo diferentes atomizadores, tais como: tubos de quartzo com furos [6-8], filamento de tungstênio [9] e tubos metálicos, baseados na técnica TS-FF-AAS [10, 11].

O interesse pelo emprego de atomizadores metálicos tem aumentado nos últimos anos, devido às grandes vantagens apresentadas pelos mesmos, tais como: elevado tempo de vida útil (*ca*. 2000 h), baixo custo (*ca*. R$ 14,00), bem como elevada resistência, se comparado àqueles de quartzo ou sílica.

Por outro lado, foi verificado no trabalho de Brancalion *et al.* [12] que por meio da técnica de TS-FF-AAS, com o emprego de menores vazões de solução carregadora, ocorria uma maior introdução da amostra na fase gasosa que na fase líquida no atomizador metálico, e, como conseqüência, um aumento da sensibilidade do método para a determinação de Cd. Assim, os resultados sugeriram que atomizadores metálicos poderiam ser estudados na técnica de HG-AAS, uma vez que, neste caso, se tem a introdução no atomizador, apenas do vapor do analito de interesse.

No tocante ao estudo morfológico de atomizadores metálicos, algumas alterações podem ser observadas na superfície das mesmas [13]. Para tentar entender essas possíveis alterações, tem sido usada a microscopia eletrônica de varredura -

SEM, bem como a detecção de Raios-X para mapear as superfícies e obter informações sobre a distribuição dos elementos químicos nestas superfícies.

Assim, a quantificação de elementos químicos como, As, Bi e Se, os quais são encontrados em amostras de interesse medicinal, ambiental e industrial, pôde ser investigada com o emprego de atomizador metálico na técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos.

1.1 HIPÓTESE E OBJETIVO

Baseado no fato de que houve uma melhora na sensibilidade do método para a determinação de Cd por TS-FF-AAS, ao empregar menores vazões de solução carregadora e como conseqüência a introdução de vapor de amostra no interior do atomizador [12], surgiu a hipótese de que atomizadores metálicos pudessem favorecer ambientes propícios para decomposição dos hidretos. Assim, para verificar esta hipótese, este trabalho tem como objetivos:

I. Avaliar a eficiência de atomizador de liga metálica na técnica de geração de hidretos na determinação de As, Bi e Se;

II. Estudar as superfícies internas dos atomizadores, com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura, para avaliar as possíveis mudanças em suas morfologias.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica abordará temas diferenciados, todos referentes à essa Dissertação. Dentre esses temas podemos citar: técnicas espectrométricas de análise, técnica de geração de hidretos, trabalhos referentes a tubos na chama, e, por fim, microscopia eletrônica de varredura.

2.1. TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS DE ANÁLISE

O estudo de diferentes elementos químicos presentes principalmente no meio ambiente, sempre foi de grande interesse na química analítica. Neste sentido, as técnicas espectrométricas tem sido empregadas para quantificar esses elementos de maneira sensível e seletiva.

Existem diferentes técnicas espectrométricas de análise de grande utilidade à química analítica, dentre elas podemos citar: espectrometria óptica, de Raios-X e de massas. A espectrometria óptica abrange técnicas de emissão atômica (ICP OES), e de absorção atômica, tais como: F AAS e ET AAS.

A técnica AAS é a mais utilizada para a determinação dos elementos individuais, a qual foi introduzida por Walsh em 1955, e está baseada no fato de o elemento no estado de vapor atômico absorver radiação em certo comprimento de onda e levar seus átomos do estado fundamental para o excitado [14]. A radiação absorvida pelos átomos é característica e bem definida para cada elemento, e deve ser igual à diferença dos níveis de energia do estado fundamental e excitado. Esta radiação absorvida é proporcional a concentração do elemento na amostra, segundo a lei de Beer. Para isso, o elemento deve ser atomizado em uma cela (atomizador) por onde passa a radiação específica que o elemento a ser determinado deve absorver. Neste contexto, podemos citar duas diferentes técnicas baseadas em diferentes atomizadores: a espectrometria de absorção atômica com chama – F AAS, e a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica – ET AAS. Esta última, por sua vez, apresenta uma variação na temperatura até atingir a temperatura de atomização, ou seja, uma rampa de aquecimento para eliminação da matriz [15].

Na F AAS, a amostra é introduzida por meio de um sistema de nebulização e os átomos são gerados a partir de uma chama formada no atomizador. Esta técnica foi por muito tempo utilizada, no entanto, a mesma apresenta baixa sensibilidade, sendo esse o motivo das investigações que buscam melhorar a performance da técnica. Neste sentido, em trabalhos atuais, têm-se procurado resolver as limitações apresentadas pela técnica com alternativas mais baratas, como acoplamento de sistemas de pré-concentração e injeção em fluxo [15].

Por outro lado, em 1959, Boris L´Vov introduziu o conceito de atomização eletrotérmica [16], a qual se baseia na introdução da amostra em uma plataforma de grafite que é aquecida eletricamente. Esta técnica apresenta vantagens, tais como: baixo consumo de amostra, melhor sensibilidade, pelo fato de ter um melhor controle desde a etapa de secagem até a atomização. Nesta última, o vapor atômico fica confinado em uma região especifica. No entanto, apresenta como limitação, elevado custo e baixa freqüência analítica [15].

Neste sentido, a geração de hidretos foi introduzida em 1969 por Holak, para contornar as limitações apresentadas pela técnica de absorção atômica, principalmente para elementos formadores de hidretos, como As, Bi, e Se [17, 18].

2.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETO (HG-AAS)

A técnica de geração de hidreto é baseada na formação de hidretos voláteis por meio da mistura de uma amostra acidificada com um forte agente redutor [18]. O sistema de geração de hidretos pode ser classificado em 4 etapas: 1) a geração dos hidretos; 2) coleta do mesmo; 3) sua transferência até o atomizador; 4) a decomposição e atomização do hidreto para posterior detecção do elemento de interesse [1,19].

Levando em consideração a sensibilidade, a seletividade, e a diminuição de interferências, uma boa opção é o acoplamento do sistema de geração de hidretos a um equipamento de absorção atômica para a quantificação de elementos formadores de hidretos voláteis (As, Se, Sb, Bi, etc.) [18].

Os hidretos podem ser gerados por meio do uso de diferentes redutores, tais como: redutores metálicos em meio ácido (Zn/HCl, $SnCl_2$/HCl-KI e Mg/HCl-$TiCl_3$) ou, então, tetrahidroborato de sódio (THB), o qual deve estar em meio básico [1, 17].

Os métodos originais referentes a HG faziam uso de redutor do tipo zinco metálico em meio ácido; porém, o mesmo apresenta um elevado tempo para a reação se completar (*ca.* 10 min), diminuindo, portanto, a freqüência analítica, ou até mesmo apresentar contaminação de As [20].

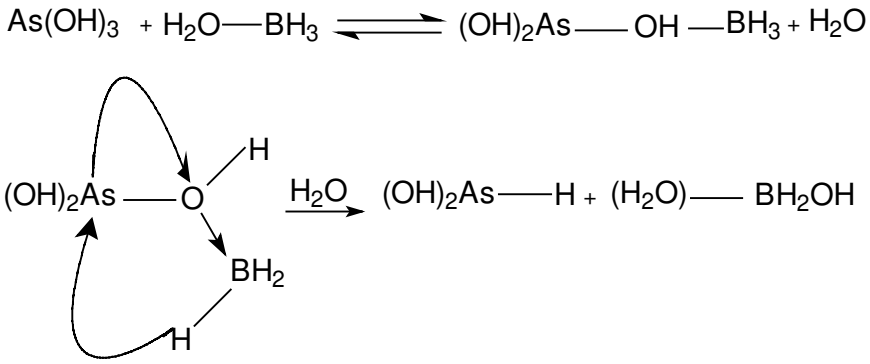
Por outro lado, D´Ulivo *et al*, testaram redutores orgânicos na geração de vários elementos formadores de hidretos. Eles relataram que os aminoboranos se assemelham ao redutor tetrahidroborato de sódio, e apresentam maior controle de interferentes (ferro, por exemplo). Por outro lado, tem como desvantagem a formação de espuma excessiva e maior tempo de reação para a formação dos hidretos, se comparado com o THB [21].

Portanto, o agente redutor THB, é atualmente o mais empregado na técnica HG, devido à rápida formação dos mesmos (µs em pH ≤ 1), bem como a redução de cerca de todos os elementos formadores de hidretos [1]. A reação envolvida assume a formação de hidrogênio nascente a partir da hidrólise do THB. Como apresentado na reação 1, este hidrogênio nascente reduz o analito à hidreto, de acordo com a reação 2 [1].

$$BH_4^- + 3H_2O + H^+ \longrightarrow H_3BO_3 + 8H^\bullet \quad (1)$$

$$M^{m+} + (m+n)H^\bullet \longrightarrow MH_n + mH^+ \quad (2)$$

Também, mais recentemente, tem sido proposta outra rota de formação dos hidretos [22, 23]. Os autores supõem que o hidreto é formado por meio de reações intermediárias entre analito e THB, ou seja, há primeiramente a formação de uma espécie intermediária de hidroboro reativo, como mostrado pela equação 3. Assim, o hidreto é formado por meio da transferência de um hidrogênio, ligado ao boro, para o analito, via mecanismo concertado como ilustrado na equação 4.



(3)

(4)

O primeiro trabalho usando THB em geração de hidretos foi proposto em 1972 por Braman *et al*. [24]. Em 1974, Thompson *e* Thomerson [25] demonstraram experimentalmente a melhora de sensibilidade com o uso de THB. Neste trabalho, os hidretos foram gerados pela mistura de amostra acidificada com 1% (m/v) de THB e transportado até um tubo de sílica de 17 cm montado sobre uma chama de ar-acetileno. Foram determinados: As, Sb, Bi, Ge, Se, Te, Sn e, pela primeira vez, o hidreto de chumbo, cujos limites de detecção encontrados foram, respectivamente: 0,0008; 0,0005; 0,0002; 0,5; 0,0018; 0,0015; 0,0005 e 0,1 μg mL^{-1}.

É importante destacar que o transporte dos hidretos pode ser de dois modos, por transferência direta ou por coleta. No primeiro modo, o hidreto formado é transportado imediatamente para o caminho óptico do equipamento. No segundo modo, o que ocorre é um aprisionamento do hidreto, após a sua formação. A utilização deste geralmente é feita quando é usado um redutor que necessite de um tempo maior para a formação completa do hidreto ou, até mesmo, no caso de trabalhos com pré-concentração [1, 26].

A vantagem apresentada por parte do THB é em relação à rapidez na ação e liberação dos hidretos, possibilita o emprego de um sistema automatizado, que pode ser por fluxo continuo (CF) ou injeção em fluxo (FI), os quais se enquadram no modo de geração de hidretos por transferência direta [1]. A figura 1 apresenta um diagrama esquemático de um sistema automatizado (fluxo contínuo). Neste caso, um fluxo constante de amostra, redutor e ácido se misturam com a conseqüente formação do

hidreto. O sistema de FI é similar, com a exceção de que, neste caso, ocorre a mistura de volumes fixos de amostra e de redutor, os quais são transportados por meio de uma solução carregadora [1, 15].

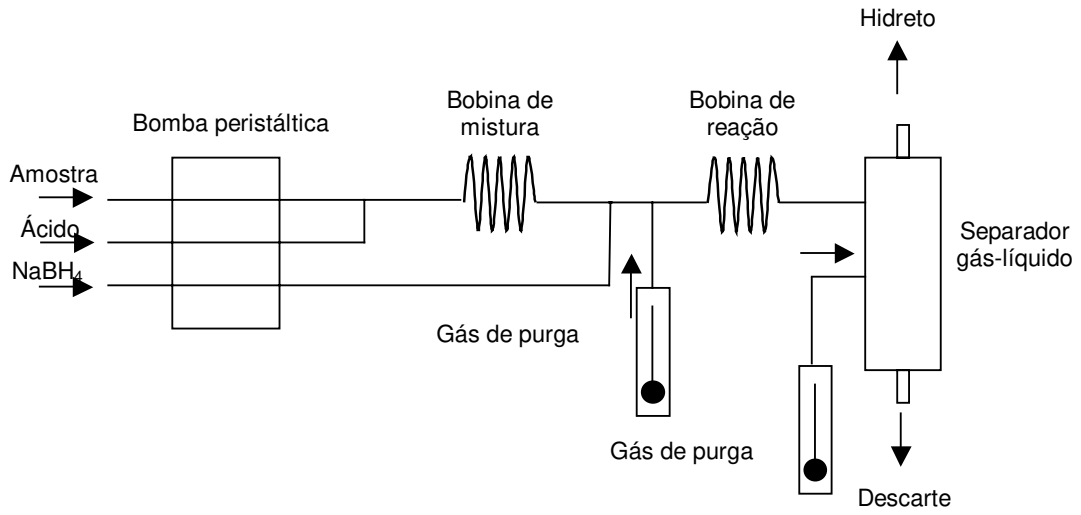


Figura 1. Representação esquemática do sistema de geração de hidreto com fluxo continuo. Figura adaptada de Dědina e Tsalev [1].

Dentre as vantagens apresentadas pelos sistemas automatizados destacam-se: melhora na sensibilidade do método, pois o hidreto formado é introduzido rapidamente até o atomizador, menor risco de diluição do hidreto pelo gás de arraste, introdução de pequenos volumes de amostra, sistemas miniaturizados, com conseqüente redução do tempo de contato, minimizando os efeitos dos interferentes [27].

A literatura apresenta trabalhos de sistemas automatizados desde 1973 [28]. Em 1975 Ruzicka e Hansen propuseram uma nova estratégia de análise, a análise por injeção em fluxo (FIA) [29]. Em 1979 Chan *et al.* [30] empregaram um sistema semi-automatizado para determinar Bi em rochas. O método apresentou um limite de detecção de 20 ng g^{-1}. Por outro lado, Aström [31] utilizou um sistema por injeção em fluxo, com a introdução de 700 µL de amostra de Bi em um alto fluxo de HCl, e alcançaram um limite de detecção de 0,08 ng mL^{-1}.

O sistema automatizado também foi aplicado por Schmidt *et al.* [32], para a determinação de outros elementos formadores de hidretos. O redutor empregado foi THB e os métodos desenvolvidos apresentaram sensibilidades iguais ou melhores às

técnicas manuais. Por outro lado, o método automatizado apresentou-se melhor que o método manual, em termos de reprodutibilidade e facilidade de operação.

Assim, devido as grandes vantagens apresentadas pelos sistemas automatizados, os mesmos são aplicados até hoje e até mesmo em trabalhos de especiação, como o apresentado por Quináia e Rollemberg [33], os quais destacam a determinação de espécies de As em águas naturais empregando sistemas FIA.

Uma outra etapa importante de um sistema de geração de hidretos, é a separação do hidreto gasoso da solução. A eficiência dessa separação é de suma importância, pois é nesta etapa que se garante que todo o analito seja transferido para o atomizador, sendo, para isso, utilizado um separador gás-líquido. Os mais tradicionais são os em forma de U, porém, estes apresentam dificuldades na separação do hidreto da solução, diminuindo a reprodutibilidade e a sensibilidade do método [27, 31].

Atualmente, tem-se proposto separadores gás-líquido do tipo varredura [9] para a determinação de As e Bi, o qual será empregado neste trabalho de Dissertação. A eficiência na separação do hidreto por meio do uso desse tipo de separador faz com que a sensibilidade dos métodos seja melhorada.

Assim, devido à separação das espécies de interesse, e na forma de hidreto, das demais presentes nas amostras, a técnica de geração de hidretos se apresenta com menos interferências se comparada a técnica AAS convencional. Porém, esta técnica apresenta inúmeras interferências que podem ocorrer principalmente na fase líquida, ou seja, durante a formação ou transferência do hidreto da solução ou, ainda, interferência na fase gasosa [1].

É importante destacar que essas interferências tanto na fase líquida quanto na fase gasosa, geralmente ocorrem quando o interferente está em excesso em relação ao analito. Portanto, a interferência pode ser controlada por meio da razão de analito:interferente.

As interferências da fase líquida são devido às mudanças na liberação do hidreto da solução, e é ocasionada por compostos da matriz da amostra, ou seja, o analito pode estar ligado a estes compostos e não ficar totalmente livre, mesmo com o tratamento da amostra.

Partículas sólidas, suspensões orgânicas, compostos inorgânicos ou orgânicos dissolvidos, podem capturar o analito impedindo a formação do hidreto. A destruição incompleta da matéria orgânica não permite a liberação da arsina, por exemplo [34].

As interferências podem ocorrer de diversas maneiras, como: reação do interferente com o analito antes da adição do redutor ou reação simultânea entre analito, interferente e redutor. Também, o hidreto formado pode se ligar diretamente a um interferente ou àquele interferente que reagiu com o redutor. Por fim, o redutor também pode ser consumido preferencialmente pelos interferentes. Esta última, é ocasionada, principalmente, por metais de transição [1].

Smith, em 1975 [35], relatou a interferência dos metais de transição como Cu, Ag, Ni e Co, por exemplo, na determinação de elementos formadores de hidretos ao empregar uma chama de argônio/hidrogênio. O mesmo autor verificou que metais alcalinos e alcalinos terrosos apresentaram menos de 10% de interferência na determinação de 6 elementos, e nos níveis estudados. Stripeikis *et al.* [36] determinaram Se na presença de Fe e Cu com o emprego de HCl 7 mol L^{-1}. O elemento Cu começou a interferir, estando a um excesso de 250 vezes em relação ao Se; no entanto, Fe apresentou interferência à partir de um excesso de 4500 vezes. Por outro lado, com o emprego de uma micro-coluna de troca aniônica as tolerâncias passaram para 1:400.000 e 1:250.000, para Se:Fe e Se:Cu, respectivamente.

Liu *et al*. [37], verificaram uma perda de mais de 10% do sinal do analito (Bi e Se), quando a razão de analito:Cu foi maior que 1:5000 e 1:1000, respectivamente. Também, o sistema apresentou uma absorção não específica atribuída à presença do elemento Cu, confirmando a necessidade da remoção deste, das amostras. Takase *et al.* [38] determinaram Bi em amostras de liga e perceberam uma tolerância a Cu e Ni, estando a um excesso de 5.000 e 10.000 vezes, respectivamente. No entanto, com o emprego de 2.10^{-4} mol L^{-1} de 2-2-tiazolilazo-*p*-cresol, como agente mascarante, a tolerância a Ni e Cu passou para 160.000 e 16.000 vezes, respectivamente.

Por outro lado, as interferências da fase gasosa são ocasionadas por espécies voláteis, que na maioria das vezes são outras espécies formadoras de hidretos. Elas podem ocorrer durante o transporte do hidreto, onde o interferente toma o seu lugar durante a passagem do mesmo até o atomizador, retardando a coleta do sinal analítico,

ou até mesmo ocorrendo a perda do hidreto. Como o relatado por Hall *et al*. [39]. Os autores mostraram que a presença de 10 mg L^{-1} de As e Sb não interferiram na determinação de Bi. Entretanto, Se apresentou uma tolerância a As de 60 vezes.

Outro caso de interferência na fase gasosa é o transporte de interferentes até o atomizador. Este tipo de interferência está diretamente ligada ao mecanismo de atomização, onde o interferente pode reduzir a eficiência na atomização dos hidretos.

Em se tratando de atomização, como já descrito anteriormente, é a etapa fundamental da espectrometria de absorção atômica, bem como da espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos.

Nos primeiros trabalhos com hidretos voláteis, os mesmos eram atomizados diretamente em uma chama de difusão de argônio e hidrogênio [40]. No entanto, esse procedimento possui desvantagens como: tempo de coleta do sinal analítico, sensibilidade limitada, diluição do hidreto quando o mesmo passa pela chama, e elevada absorção de fundo [25]. Desde então, muitas propostas tem sido feitas com o intuito de melhorar esses problemas por meio do emprego de atomizadores.

2.3. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM TUBO NA CHAMA E SPRAY TÉRMICO

Devido às limitações apresentadas com a introdução do hidreto diretamente na chama, como o relatado anteriormente, muitas propostas têm sido levantadas com relação ao emprego de atomizadores na forma de tubo para atomização de hidretos voláteis. Essas idéias provavelmente surgiram baseadas nos primeiros trabalhos empregando tubo na chama, como o relatado por Robinson em 1962 [41], o qual empregou um tubo de quartzo na forma linear ou de um T sobreposto na chama do equipamento com o intuito de melhorar a sensibilidade da técnica F AAS por aprisionamento dos átomos. A sua proposta apresentou um ganho em sensibilidade e limite de detecção. Em 1970, Delves [42] propôs o emprego de um recipiente de Ni de 10 mm de diâmetro e 5 mm de altura, para suportar pequenos volumes de amostra. Este recipiente era então levado a um tubo de Ni posicionado em uma chama, para a quantificação dos elementos presentes nas amostras. Com isso, uma melhora em

termos de limites de detecção da F AAS com pequenos volumes de amostra foi alcançada.

Com relação aos atomizadores empregados na técnica de HG-AAS, o primeiro trabalho empregando um tubo na chama foi proposto por Thompson e Thomerson em 1974 [25], eles avaliaram as vantagens apresentadas com o uso de um tubo (atomizador de sílica) em uma chama de ar-acetilano, como um dispositivo de decomposição de hidretos. As vantagens em relação à introdução dos hidretos diretamente em uma chama foram: a diminuição do sinal de fundo para os elementos As e Se, bem como a melhora na sensibilidade dos métodos. No mesmo ano e mês, Goulden e Broksbank [43] aplicaram o atomizador de sílica, aquecido por meio de uma resistência, para a decomposição dos hidretos de forma automatizada e simultânea. As sensibilidades dos métodos encontradas foram duas ordens de grandeza maiores àquelas apresentadas por métodos com introdução direta dos hidretos em uma chama.

Entretanto, o QTA é o atomizador mais empregado na geração de hidretos. Este é um tubo de quartzo na forma de um T, com uma parte posicionada no caminho óptico e a outra (transversal à esta) usada para a introdução do hidreto. Este atomizador pode ser de dois tipos: 1) tubo de quartzo aquecido externamente ou 2) tubo de quartzo com chama interna. O tubo de quartzo aquecido, emprega uma resistência elétrica ou uma chama de ar-acetileno para atingir uma temperatura que varia de 700ºC a 1100ºC. Por outro lado tubo de quartzo com chama interna emprega um tubo especial (tubo de junção) para a entrada de uma chama de oxigênio, ou hidrogênio, no atomizador, para sustentar uma chama rica em oxigênio-hidrogênio. Este atomizador não requer aquecimento externo [7]. Ele foi primeiramente introduzido por Siemer e Hageman [44].

Em ambos os atomizadores, os hidretos, sob condições ótimas, são atomizados por reações com radicais de hidrogênio, extremamente energéticos [45].

A vantagem apresentada pelo QTA é a elevada sensibilidade, o baixo ruído e os bons limites de detecção. Por outro lado, como desvantagens, podemos citar: a pouca resistência à atomização de interferentes e a linearidade insatisfatória da curva de calibração [6, 7, 46].

No entanto, até hoje, o atomizador de quartzo é o mais empregado, como percebe-se por meios dos trabalhos encontrados na literatura, que envolvem pré-

concentração [47], especiação [48], e até mesmo a quantificação total dos elementos químicos formadores de hidretos. Dědina, em 1982 [49], estudou o tubo de quartzo com chama interna. O mesmo introduziu um fluxo constante de oxigênio no interior do tubo de quartzo e percebeu uma redução de 2-3 ordens de grandeza nas interferências causadas por As, Sn, Bi e Sb, se comparadas àquelas apresentadas com o uso de atomizadores de tubo de quartzo aquecidos eletricamente, ou em chama convencional. Grinberg *et al*. [6] descreveram o uso de um atomizador QTA com multi-chamas, ou seja, um atomizador de quartzo aquecido externamente por uma chama ar-acetileno com 5 furos de 2 mm de diâmetro, cada um, na parte inferior do atomizador, por onde ocorria a entrada parcial da chama. O referido trabalho apresentou maior tolerância às interferências apresentadas por outros elementos formadores de hidretos na determinação de As, Bi, Sb e Se; porém, o método apresentou uma perda em sensibilidade de 25 – 75%. Uma explicação para esse fato pode ser, as reações entre o analito e os componentes da chama ar-acetileno, que ocorrem preferencialmente às reações entre analito e interferente.

Dědina e Matousek em 2000 [7] utilizaram um atomizador com multi-microchamas com a introdução de uma mistura de gases argônio-oxigênio para determinação de Se. Eles observaram que a absorbância foi em torno de 10% maior que com o uso de QTA convencional, maior linearidade (10 vezes), e uma maior tolerância a interferentes. No entanto, os limites de detecção foram comparáveis para os dois atomizadores.

Recentemente tem sido proposto outro tipo de tubo na chama com a função de atomizador: o tubo de Ni, empregado primeiramente por Gáspár e Berndt em 2000 na técnica TS-FF-AAS [11]. Esta técnica tem por princípio a introdução da amostra em um tubo de liga de Ni 99,9% (m/m), que está sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica, por meio de um capilar cerâmico. A representação esquemática está ilustrada na figura 2.

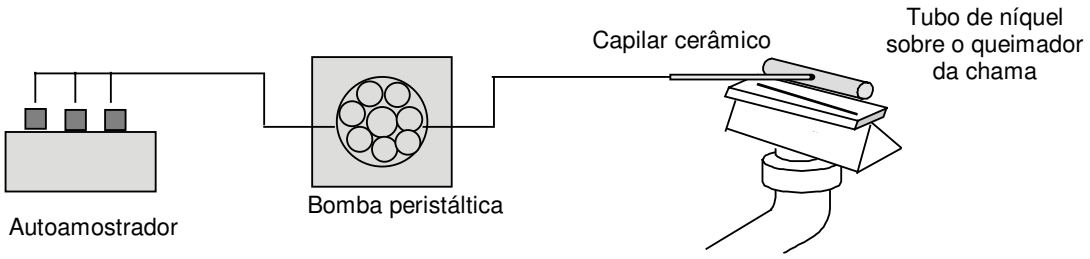


Figura 2. Representação esquemática da técnica TS-FF-AAS. Figura adaptada de Gáspár e Berndt [11].

Esta técnica é amplamente empregada para determinação de muitos elementos, em diferentes amostras, sendo simples, robusta e apresentando ótima sensibilidade. A eficiência de nebulização desta técnica pode ser atribuída ao elevado aquecimento na extremidade do capilar cerâmico (*ca.* 1 cm), uma vez que a formação do *spray* térmico, parece estar, intrinsecamente ligada ao efeito de Leidenfrost [12, 50]. A completa introdução da amostra implicou na melhora do limite de detecção da técnica de 14 - 67 vezes para 5 elementos investigados [11]. Desde então, diveros trabalhos tem sido encontrados na literatura, com o emprego da técnica TS-FF-AAS.

As vantagens da mesma podem ser comprovadas por diversos trabalhos publicados, como o apresentado por Pereira-Filho *et al*. [51]. Os autores demonstraram as vantagens do uso da técnica TS-FF-AAS na determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de suspensão de rim suíno, espinafre, massa de tomate e fígado bovino. Os limites de detecção encontrados foram de 0,5 μg L^{-1}, 4,3 μg L^{-1} e 3,5 μg L^{-1}, respectivamente. Por outro lado, Tarley e Arruda [52] determinaram Cd empregando espuma de poliuretano (PUF) como material pré-concentrador. Esta metodologia apresentou um aumento no poder de detecção de *ca*. 5 vezes (LD= 0,12 μg L^{-1}), quando comparado à sensibilidade da técnica TS-FF-AAS, sem o sistema de pré-concentração.

Nascentes *et al.* [53], determinaram os elementos Zn e Cu em suco de frutas e leite bovino sem qualquer pré-tratamento da amostra empregando a técnica de TS-FF-AAS. Os métodos apresentaram limites de detecção de 2,2 e 0,91 μg L^{-1}, respectivamente para Cu e Zn. A técnica, bem como sua eficiência, também foi

empregada para a determinação de Mn, Cu, Pb e Zn em cervejas, como demonstrado por Nascentes *et al.* [54].

Trabalhos recentes como o de Brancalion e Arruda [10] demonstraram as vantagens do uso da técnica na determinação de Cd por decomposição de amostras de plantas medicinais, assistida por radiação microonda empregando mini-frascos. A técnica apresentou-se simples, rápida e com redução de contaminação. O limite de detecção obtido para o método foi de 5,2 $\mu g\ L^{-1}$.

Por outro lado, foi recentemente publicado o emprego de atomizador metálico na técnica de geração de hidretos, como relatado por Figueiredo *et al.* [13]. Nesse trabalho, os autores determinaram o elemento Sb pela técnica HG-AAS empregando um atomizador de liga metálica INCONEL600®. Os mesmos obtiveram um aumento de 10 vezes na sensibilidade se comparado com a sensibilidade apresentada pelo QTA convencional.

2.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Paralelamente ao desenvolvimento dos microscópios eletrônicos de transmissão, surgiu o microscópio eletrônico de varredura (SEM). Este permite a visualização da superfície de amostras volumosas [55], ou seja, de estruturas e microestruturas invisíveis a olho nu [56]. Em 1848, Leyden fez uso da microscopia no estudo em células, e em 1957, Pasteur aplicou a microscopia em estudos com bactérias. O primeiro microscópio óptico foi estabelecido por Abbé em 1873 [56].

Com o objetivo de melhorar o microscópio em ternos de resolução, surgiu a microscopia eletrônica, a partir da união das teorias de Louis de Broglie e Schrödinger (associação da natureza da onda com os elétrons e desenvolvimento dos mecanismos da onda, respectivamente), com a teoria de Ruska e Knoll, a qual se baseia nas propriedades das lentes [56].

O primeiro protótipo de microscópio eletrônico foi construído por Ernst Ruska e Max Knoll em 1931, sendo sua característica relacionada com o fato de a imagem ser formada, ponto a ponto, pela varredura de um feixe de elétrons sobre a amostra [57]. Após 4 anos, o primeiro trabalho envolvendo conceitos de um microscópio de varredura foi desenvolvido por Knoll. Em 1942, um microscópio exclusivamente de varredura foi

desenvolvido por Zworykin e colaboradores, quando foram geradas imagens topográficas por meio da detecção de elétrons secundários [58]. O primeiro equipamento comercial foi construído em 1965 pela *Cambridge Scientific Instruments*. Porém, nos anos 80, a técnica se tornou mais versátil por empregar microscópios capazes de examinar amostras sob pressão relativamente elevada, o que impede a perda de água, o que foi fundamental para análise de amostras biológicas.

Os microscópios eletrônicos utilizam elétrons no lugar de luz para a formação da imagem, sendo essa a característica que os diferenciam dos microscópios ópticos. Com isso, um ganho em resolução foi obtido, com conseqüente aumento da visualização, podendo chegar a ordem de nanômetros [58].

A técnica de microscopia eletrônica se baseia no fato de haver uma interação de feixes primários emitidos, com a amostra. A irradiação da amostra com elétrons provoca a emissão de elétrons secundários, retroespalhados e de raios-X. No entanto, a maioria dos microscópios eletrônicos apresenta detectores para elétrons secundários e retroespalhados para obtenção de imagens [58].

Na química analítica, a técnica SEM foi muito empregada para estudar a morfologia das plataformas de grafite, como o relatado por Welz *et al.* [59], os quais verificaram o tempo de vida útil das mesmas após o emprego de nitrato de lantânio como modificador químico no tubo de grafite. Foram aplicadas diferentes concentrações deste modificador e as micrografias foram obtidas após 200 determinações. O estudo mostrou que após o uso prolongado do tubo sem o emprego deste modificador químico foi observada a formação de nódulos de grafite pirolítico. Após o emprego de nitrato de lantânio, essa formação de nódulos de grafite foi prevenida. Por outro lado, em altas concentrações deste modificador, a corrosão do tubo de grafite foi observada. Em 2002 Arruda e colaboradores [60] investigaram a superfície da plataforma de L'vov por meio da técnica SEM, após o emprego de Zr como modificador químico permanente. Os mesmos verificaram diferenças na morfologia de plataformas tratadas com Zr das convencionalmente tratadas com $Mg(NO_3)_2$. Também, os autores puderam observar que as morfologias foram similares quando comparadas com as plataformas novas.

Flores *et al*. em 2005 [61] verificaram o desempenho do modificador permanente Rh por meio da técnica SEM, para a determinação de Sc em suspensão de sedimento por ET AAS. Os autores perceberam que o modificador permanente Rh ficou

incorporado na superfície da plataforma; entretanto, sem o tratamento com este modificador, foi verificada corrosão em alguns pontos da superfície da plataforma de grafite, bem como efeito de memória.

Micrografias foram também empregadas após o uso do tubo de Ni na técnica de TS-FF-AAS [62]. Foi verificado o surgimento de alguns orifícios, bem como a presença de elementos Ca, P, Si e Mg, principalmente na região de impacto do *spray* térmico.

Portanto, o emprego da microscopia eletrônica de varredura torna-se importante para verificar possíveis alterações na superfície dos atomizadores empregados, bem como a distribuição, a deposição dos elementos químicos e as possíveis interações envolvidas com os atomizadores.

Capítulo 1

Tubo metálico como atomizador na técnica de HG-AAS: determinação de Arsênio

1. OBJETIVO

Este capítulo visa o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação do As, empregando um tubo de liga metálica como atomizador na técnica de HG-AAS. Primeiramente, foram avaliadas as variáveis físicas e, posteriormente, as variáveis químicas envolvidas no sistema proposto. Após as otimizações, foram obtidos os parâmetros analíticos, um estudo com concomitantes, bem como teste de exatidão do método com materiais de referência certificados.

Ao final das etapas, o atomizador metálico foi cortado em diferentes partes e estas analisadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura acoplada a um detector de Raios-X.

2. INTRODUÇÃO

O As foi usado há mais de 2400 anos na Grécia, e em Roma, como veneno e agente terapêutico. Os farmacologistas estudaram este elemento devido a sua história, e, a base de muitos conceitos modernos da farmacoterapia é devido a trabalhos de Ehrlich com espécies orgânicas de As [63].

A maior fonte de As está nas rochas, mas pode ser também encontrado na água, no ar e no solo, devido ao intemperismo das rochas [63]. Como exemplo, podemos citar as nascentes de água em partes da Argentina, do Chile e da Tailândia, as quais apresentam concentrações elevadas do elemento As. Este também pode ser liberado no meio ambiente por ser um subproduto da fundição de Cu, Pb, Zn, entre outros, ou até mesmo pela combustão do carvão. Entretanto, devido a sua bioacomulação pode ser encontrado em tecidos animais e vegetais [15].

A principal fonte antrópica do As é a produção de pesticidas, podendo estar presente, então, em frutos e alimentos borrifados com esse tipo de pesticida, ou até mesmo lixiviados para rios e águas subterrâneas quando empregados no solo [63]. Na forma de trióxido de arsênio (As_2O_3), este elemento é aplicado no tratamento de leucemia promielocítica aguda [64]. Também é usado como arsina na produção dos *chips* de computadores, nas indústrias de vidro, na preservação da madeira, na produção de semicondutores, na fabricação de LED, laser, etc. [63,65].

A toxicidade do As é maior na sua forma inorgânica do que na forma orgânica, mesmo quando administrado em pequenas doses, principalmente na forma de gás arsina (AsH_3), podendo causar câncer de pele, doenças cardiovasculares, diabetes, perda da audição, anemia, entre outros [66, 67]. Apesar de ser eficiente no tratamento de leucemia, tumores de próstata, rim e bexiga, quando ingerido em doses elevadas, causa dor abdominal, vômito, diarréia, e, em casos crônicos, necrose tubular renal, dificuldade respiratória e neuropatias [65].

As espécies de As trivalentes inibem muitas enzimas, reagindo com ligantes biológicos que contenham grupamento SH disponíveis.

Os sais de arsênio solúveis são altamente tóxicos, pois podem ser mais facilmente absorvidos que os óxidos pelo trato gastrointestinal. Assim o As fica armazenado principalmente no fígado, rins, coração e pulmão, podendo ser também

encontrado nos cabelos e unhas, devido à elevada concentração de sulfidrila e queratina [63].

Devido à sua toxicidade, um novo padrão de redução de nível máximo permitido de As em águas naturais, tornou-se efetivo pela ANVISA e pela Agência de Proteção Ambiental (EPA). A redução foi de 50 µg L^{-1} para 10 µg L^{-1} [68].

Em virtude da fonte variada deste elemento, a sua concentração deve ser monitorada em diferentes amostras por técnicas como a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, anteriormente descrita no item 2.2 da revisão bibliográfica. Para isso, a decomposição dessas amostras é primordial, pois é necessário que todo elemento esteja na forma livre para que a arsina seja formada.

Amostras como sedimento, por exemplo, onde este elemento é abundante, são facilmente solubilizados e/ou mineralizados por radiação microonda. Esta envolve temperatura e pressão para decomposição da amostra, obtidas por meio da interação da radiação microonda com a mesma. Esses parâmetros são controlados e permitem a determinação adequada de etapas para uma decomposição completa [69]. É importante destacar também, que é necessário o uso de reagentes químicos para uma decomposição eficaz da amostra. Por outro lado, em amostras de tecido animal (peixes, por exemplo), a maior quantidade de As está presente na forma orgânica, sendo de difícil mineralização [69]. Para as mesmas, empregando decomposição assistida por radiação microonda, é necessário o uso de ácidos altamente oxidantes como, ácido perclórico, por exemplo, no entanto, este é pouco usado devido a sua periculosidade. Quevauviller *et al*. [70] obtiveram baixas recuperações para As em amostras de peixes usando ácido nítrico e peróxido por decomposição com microonda em sistema aberto. Jones e Capar [71] mostraram a eficiência na mineralização de amostras de tecido de ostra com o uso de uma mistura de três ácidos: nítrico, sulfúrico e perclórico, para a determinação de As. Outros autores mostram a eficiência na mineralização em linha de amostras, por meio do uso de radiação ultravioleta [72].

Por outro lado, uma técnica rudimentar como a calcinação, pode ser uma opção para a mineralização dessas amostras, desde que se tenha o cuidado para não haver perdas do analito. Esta tem por fundamento a combustão da matéria orgânica por meio de um forno tipo mufla. A queima da fração orgânica ocorre com o oxigênio do ar

(agente oxidante), resultando em uma cinza (material inorgânico não volátil) solúvel em ácido diluído [69, 73]. Esta metodologia é uma alternativa barata, eficiente, porém morosa.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com chama (F AAS) modelo AAnalyst300, marca Perkin-Elmer, equipado com corretor de fundo de Deutério e um software PE-AA WinLab. As condições de operação do equipamento foram as sugeridas pelo fabricante (comprimento de onda de 193,7 nm, fenda de 0,7 nm e corrente da lâmpada EDL de 300 mA). As medidas dos sinais de absorbância foram baseadas em área de sinal (absorbância integrada) e corrigidas do sinal de fundo.

Para a análise das micrografias foi empregado um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca Jeol, modelo JSM-6360 LV, e um suporte de ouro que serviu de porta amostra.

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS

O sistema proposto está ilustrado na figura 3. A arsina foi gerada por meio de um sistema FI-HG acoplado a um espectrômetro de absorção atômica com chama. Os elementos químicos foram atomizados em um tubo de liga metálica INCONEL600®.

O sistema constitui de bomba peristáltica Ismatec IPC-12, com tubos de Tygon® de diferentes diâmetros para o transporte das soluções, reagente, bem como da solução carregadora. Um injetor-comutador de acrílico (polimetracrilato de metila), e pontos de confluência de acrílico [74], bem como, tubos de polipropileno (PP) de 0,7 mm (d.i.) foram empregados com a finalidade de conduzir a solução. O hidreto foi separado em uma cela de separação gás-líquido de acrílico [9] e o gás de purga utilizado no sistema foi o argônio.

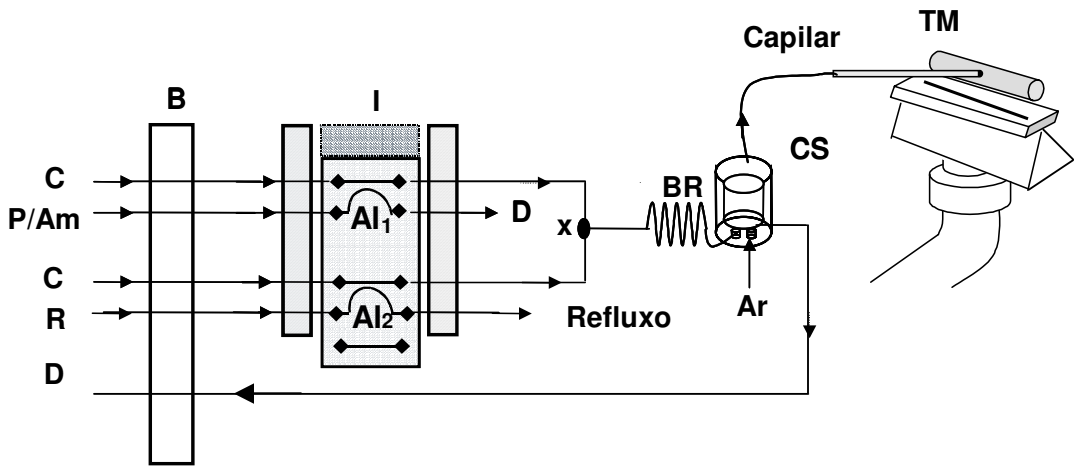


Figura 3: Esquema do sistema de injeção em fluxo, na posição de amostragem. [B] Bomba peristáltica; [C] Solução carregadora (água desionizada, Milli-Q); [P/Am] Solução Padrão ou Amostra; [I] Injetor Comutador; [Al_1-Al_2] alças 1 e 2, respectivamente; [R] redutor tetrahidroborato de sódio, com sistema de recirculação; [x] Ponto de confluência; [D] Descarte; [BR] Bobina de reação; [Ar] Argônio; [CS] Cela de separação; [TM] Tubo de liga metálica.

3.2.1. DESCRIÇÃO DO SISTEMA

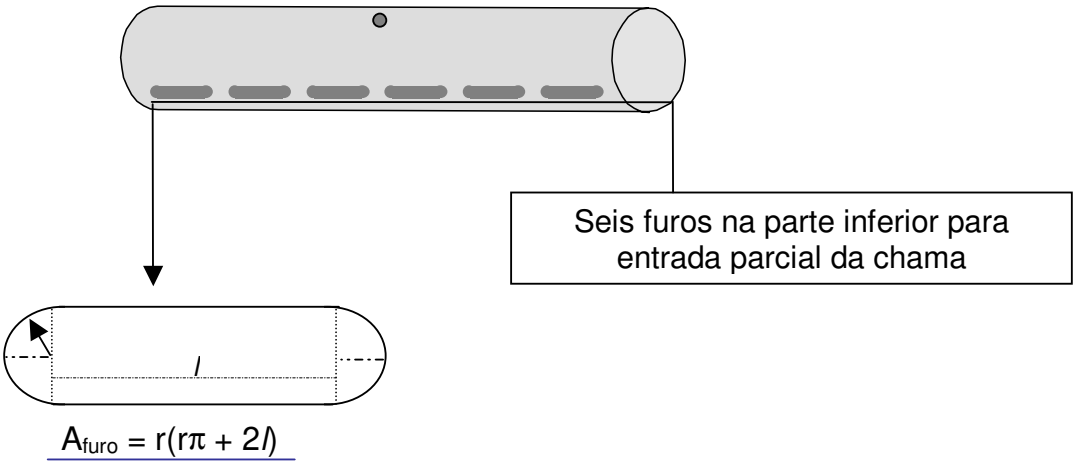
O padrão de As, juntamente com o redutor, é transportado por meio de uma solução carregadora, com o auxílio de uma bomba peristáltica até o ponto de confluência, onde se misturam. Após isso, seguem até a bobina de reação, onde o hidreto é formado. O mesmo é, então, separado por meio de uma cela de separação gás-líquido, e transportado com o auxílio de um gás de arraste (argônio) até o atomizador de liga metálica (INCONEL600®, Camacam, São Paulo) que está sobre o queimador do AAS, semelhante ao sistema proposto por Gáspar e Bernt [11]. Este atomizador, cuja composição está apresentada na tabela 1, foi confeccionado com dimensões 100 *x* 12 *x* 10 mm (comprimento *x* d.e. *x* d.i.), com seis aberturas de mesmo tamanho em forma de elipse, igualmente espaçadas na parte inferior, para a entrada parcial da chama, e 1 orifício (d= 2 mm) no centro na parte frontal, perpendicular aos demais furos. Este último é usado para a introdução do capilar, cuja extremidade fica cerca de 2 mm dentro do tubo atomizador.

A figura 4 representa as posições de cada furo do atomizado e a equação empregada para o cálculo da área de cada um deles. Diferentes áreas totais de furos (a soma de cada uma das áreas) foram estudadas, e os valores estão descriminados na tabela 2.

Tabela 1: Composição da liga metálica INCONEL600® empregada para confecção do atomizador.

Elemento Químico	Composição da liga % (m/m)*
Níquel	75,600
Cromo	15,200
Ferro	7,960
Manganês	0,360
Alumínio	0,280
Silício	0,210
Titânio	0,210
Cobalto	0,030
Carbono	0,025
Cobre	0,020
Boro	0,004
Fósforo	0,004
Enxofre	0,001

*Dados fornecidos pela empresa CAMACAN



Onde, r: é o raio;

l: comprimento do furo.

Figura 4: Dimensões dos furos presentes no atomizador INCONEL600®.

Tabela 2: Diferentes áreas estudadas, de um furo e áreas totais dos furos do atomizador.

Área, mm^2	6x Área, mm^2
3,2	19
7,2	43
11,2	67
15,2	91
19,2	115

3.3. LEITURAS DA TEMPERATURA DO ATOMIZADOR DE LIGA METÁLICA

Durante um dia de trabalho foi verificada a estabilização da temperatura da parte externa do atomizador metálico. Para isso, foi utilizado um pirômetro óptico Ircon, UltimaxTM 20 Infrared Thermometer / 600 - 3000ºC, operando a 90 cm de distância do atomizador e perpendicular a ele.

As leituras foram feitas em cinco diferentes pontos do atomizador, e em triplicata, como ilustrado na figura 5. As setas, em amarelo, demonstram as posições que as temperaturas foram avaliadas.

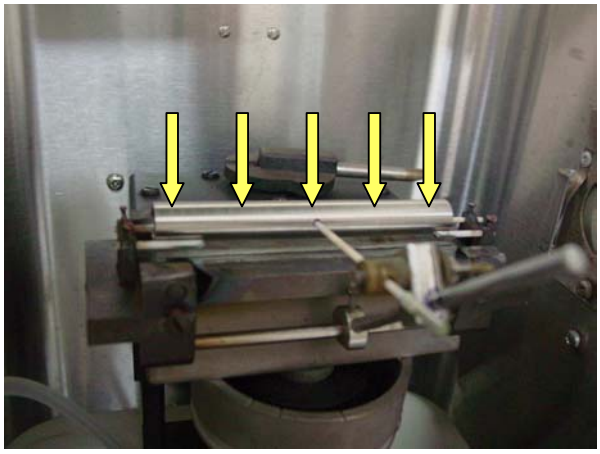


Figura 5: Foto do atomizador sobre o queimador do FAAS e as posições de leituras de temperatura da parte externa do atomizador metálico.

3.4. MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES

Toda vidraria utilizada foi descontaminada por meio da sua imersão em um banho de 10% (v/v) de ácido nítrico (p.a J.T.Baker, Xalostoc, México) com água desionizada e purificada por processo MilliQ marca Millipore, modelo Direct-quantumTM EX., resistividade específica de 18 MΩ.cm (25 ^{0}C), durante 24 horas.

A solução intermediária de referência de As foi preparada diariamente a partir de padrão de referência rastreado de As 1000 mg L^{-1}, (Tec-Lab, NIST, USA), diluída com ácido clorídrico (p.a Merck, Darmstadt, Alemanha), a uma concentração a ser otimizada, e água Milli-Q.

O agente redutor tetrahidroborato de sódio (p.a. Aldrich 98%, Steinheim, Alemanha), armazenado em dessecador, foi preparado diariamente a partir de sua dissolução em uma solução de hidróxido de sódio (p.a. Merck), a uma concentração a ser otimizada.

Ácido nítrico concentrado (p.a. Merck, Darmstadt, Alemanha) e ácido fluorídrico concentrado (p.a. Merck, Darmstadt, Alemanha), foram utilizados para decomposição das amostras. Para as amostras de peixe também foi empregado nitrato de magnésio.

Para promover a redução do As(V) para As(III), foi empregada uma mistura de iodeto de potássio e ácido ascórbico.

Para a limpeza do porta-amostra empregado nas análises de microscopia, foi empregado um removedor de metais (Kaol), bem como acetona (p.a JTBacker, Xalostoc, México).

3.5. TESTE DE EXATIDÃO

Para o teste de exatidão do método proposto foram selecionados como materiais certificados, o SRM 1566a - tecido de ostra, provenientes da NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA); o BCR 422 - músculo de bacalhau e o BCR 320 - sedimento de rio provenientes da BCR (Bureau Community of Reference, Bruxelas, Bélgica).

3.6. PREPARO DAS AMOSTRAS

3.6.1. AMOSTRAS DE TECIDO ANIMAL

A amostra de músculo de bacalhau, bem como a de tecido de ostra foram preparadas segundo o procedimento apresentado por Ribeiro *et al.* [73]. Foram pesadas massas em torno de 250 mg em cadinhos de porcelana, juntamente com 1,5 g de nitrato de magnésio, para evitar a volatilização de As, com posterior adição de 10 mL de ácido nítrico concentrado. As amostras foram submetidas ao aquecimento brando em chapa até quase a secura para eliminação do excesso de ácido. Posteriormente, as amostras foram conduzidas à mufla. A temperatura inicial foi de 200 ºC e esta foi aumentada em 50 ºC a cada 30 min, até uma temperatura de 450 ºC. Esta foi mantida por mais uma hora. As cinzas brancas formadas foram dissolvidas em 4,2 mL de ácido clorídrico concentrado e as soluções resultantes foram transferidas quantitativamente por meio de filtração para balões de 50 mL e 25 mL, para BCR 422 e SRM 1566a, respectivamente, para remoção de alguns precipitados escuros provenientes da calcinação. Os volumes de 10 mL da amostra BCR 422 e de 2,2 mL SRM 1566a resultantes das decomposições, foram transferidos para balões de 25 mL e 10 mL, respectivamente, contendo iodeto de potássio 2% (m/v), ácido ascórbico 4% (m/v) e HCl 4 mol L^{-1}. Esta concentração de ácido clorídrico foi necessária para completa dissolução do ácido ascórbico.

3.6.2. AMOSTRA DE SEDIMENTO DE RIO

Uma massa de aproximadamente 250 mg do material certificado BCR 320 foi submetida a uma pré-digestão com 5 mL de água régia por 40 min, com posterior adição de 2,5 mL de ácido fluorídrico concentrado. Os frascos foram posteriormente fechados e introduzidos no forno de microonda para a decomposição das amostras. O programa está ilustrado na tabela 3. Então, foi adicionada uma quantidade (ponta de espátula) de ácido bórico para a eliminação do ácido fluorídrico, com posterior aquecimento em chapa (*ca.* 70 ºC) até quase secura.

A amostra filtrada foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL. Um volume de 2 mL foi transferido para um balão de 25 mL contendo iodeto de potássio 2% (m/v), ácido ascórbico 4% (m/v) e HCl 4 mol L^{-1}. As soluções resultantes foram levadas para a quantificação de As.

Tabela 3: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de sedimento de rio. Programa adaptado de Ribeiro *et al.* [73].

Etapa	Tempo/min	Potência/W
1	3	200
2	5	400
3	5	600
4	20	700

3.7. DESEMPENHO ANALÍTICO

O desempenho analítico foi verificado por meio das figuras de mérito obtidas para o método em questão, com base nas absorbâncias integradas por tempo (s). As medidas foram realizadas em triplicata para diferentes soluções de referência de As.

Uma curva analítica foi obtida, e as concentrações desta variaram de 7,7 – 80 μg L^{-1}. O coeficiente angular foi obtido por meio da equação da reta desta curva [75].

3.8. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi iniciado com a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema proposto. A otimização das variáveis foi realizada em termos de absorbância integrada e perfil de sinal, para uma solução de As 50 μg L^{-1}. As variáveis estudadas estão apresentadas na tabela 4. O material empregado para a confecção, tanto das alças de amostragem, como da bobina de reação, foi de polipropileno.

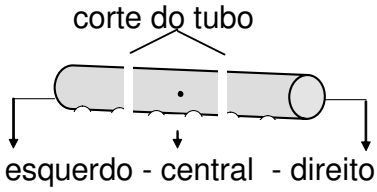
Tabela 4: Variáveis estudadas para determinação de As

Variáveis estudadas	Faixa estudada
Volume injetado / μL	300 - 2000
Vazão de carregador / mL min^{-1}	6,1 - 13,4
Comprimento da bobina de reação / cm	10 - 90
Vazão de acetileno / L min^{-1}	1 - 4
Vazão de ar / L min^{-1}	8 - 12
Vazão de gás de arraste / mL min^{-1}	28 - 198
Diâmetro interno do capilar / mm	0,5 - 1,5
Vazão da água de nebulização / mL min^{-1}	2 - 5
Área total de furos do atomizador / mm^2	0 - 115
Concentração de ácido / mol L^{-1}	0,1 – 3,0
Concentração de $NaBH_4$ / %	0,2 - 1,5
Concentração de NaOH / %	0,2 - 1,5

3.9. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

Por meio das análises no MEV foram obtidas micrografias, tanto para o atomizador metálico utilizado no desenvolvimento da metodologia proposta para a determinação de As, bem como para um atomizador sem uso. Estes foram fracionados em diferentes partes, como mostrado na figura 6. Essas partes foram colocadas, no porta-amostra, e submetidas a análise no MEV, juntamente com determinações semiquantitativas dos elementos presentes na superfície interna do atomizador, por meio de um detector de Raios-X. As micrografias foram obtidas em diferentes aumentos, dependendo da informação apresentada para cada micrografia.

É interessante destacar que pelo fato da amostra (atomizador metálico) conter metais na sua composição, não foi necessário metalizar a mesma com ouro, que é um procedimento comum na técnica SEM.



(a) Lado esquerdo	(b) Parte central	(c) Lado direito
1a:superior	1b: Superior	1c: superior
2a: Inferior	2b: Inferior	2c: Inferior
3a: Atrás	3b: Atrás	3c: Atrás
4a: Frontal	4b: Frontal	4c: Frontal

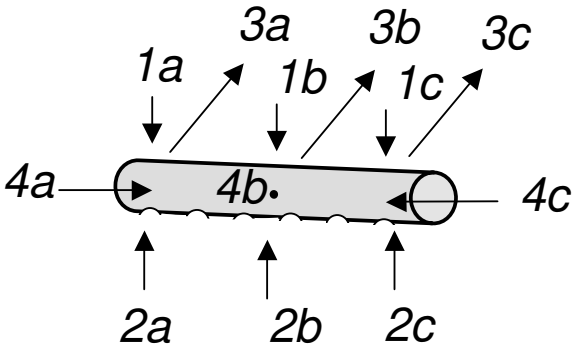


Figura 6: Ilustração das diferentes posições do atomizador, analisadas pelo microscópio eletrônico de varredura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. NATUREZA DO TUBO METÁLICO

Como o atomizador com liga de Ni 99,9% (m/m) é comumente usado na técnica de TS-FF-AAS, este mesmo atomizador foi testado para a determinação de As por HG-AAS. No entanto, o mesmo não apresentou sensibilidade significativa. Portanto, foi confeccionado um atomizador com as mesmas dimensões daquele empregado na técnica TS-FF-AAS, porém, com outra composição de liga (INCONEL600®, Ni 75,60% (m/m), Cr 15,20% (m/m) e Fe 7,96% (m/m)).

O sinal analítico para um padrão de As 50 µg L^{-1} foi pequeno, mesmo com emprego do atomizador INCONEL600® (vide figura 7). No entanto, foi verificado, um aumento de 65% e estabilidade do sinal analítico para o mesmo padrão de As 50 µg L^{-1} (RSD de 5% para 60 injeções), após a injeção de um padrão concentrado de As 40 mg L^{-1}, no sistema.

Esses resultados evidenciaram alguma alteração na superfície do atomizador, proporcionando um ambiente favorável à atomização da arsina. Possivelmente, o que pode estar se formando são espécies do tipo $NiAs_2O_6$ [13]. Portanto, todo o As injetado presente no padrão de 50 µg L^{-1} reage com parte do Ni presente na superfície da liga para a formação desse tipo de composto. Por outro lado, após a injeção de um padrão de As 40 mg L^{-1}, praticamente todo o Ni presente na superfície da liga do atomizador é consumido; logo, as demais determinações com padrão de As 50 µg L^{-1} puderam ser realizadas sem a interferência do Ni presente na superfície.

Espécies como $Ni_3(AsO_4)_2$ também são susceptíveis de ocorrer, uma vez que apresentam adequada energia livre de Gibbs ($\Delta^{\circ}G_f$ = -1581,73 kJ mol^{-1}) [76] para a sua formação [77].

Uma vez que a arsina se decompõe a temperaturas *ca* 700ºC [19], segundo a equação 5, o As livre pode reagir favoravelmente com óxido de níquel e formar alguma das espécies mencionadas anteriormente. Provavelmente, o óxido de arsênio não se forma primeiro, pelo fato da literatura apresentar que, para a síntese da espécie $NiAs_2O_6$ a partir da reação de NiO com As_2O_5, foi necessária uma semana a uma temperatura de 700 ºC [78].

$$AsH_3 + H^{\bullet} \rightarrow As + H_2 \qquad (5)$$

Após o consumo de praticamente todo Ni presente na superfície do atomizador para a formação de alguma das espécies mencionadas acima, provavelmente uma camada de óxido de cromo pode ter se formado, e este composto possivelmente não interfere na determinação do As. Isso foi sugerido após a verificação de uma cor esverdeada no atomizador, no decorrer do trabalho e após as análises das micrografias da superfície interna do atomizador.

Essas hipóteses podem explicar o fato de um atomizador de Ni 99,9% (m/m), não produzir a devida sensibilidade para o elemento As, pois enquanto houver Ni na superfície da liga, este pode estar constantemente reagindo com o As, introduzido no sistema.

Este resultado está de acordo com o relatado por Figueiredo *et al.* [13]. Os autores quantificaram Sb por meio do uso de um atomizador INCONEL600® com a técnica de HG-AAS, tendo apresentado o mesmo comportamento. Estes sugerem que tais reações podem ocorrer:

(6) $4NiO + 2Sb \rightarrow NiSb_2O_4 + 3\ Ni$

(7) $NiSb_2O_4 + O_2 \rightarrow NiSb_2O_6$

Todas essas hipóteses de formação de compostos de As com óxido de níquel foram sugeridas após o estudo das micrografias, bem como do mapeamento por Raios-X, como descrito no item 4.7 deste Capítulo.

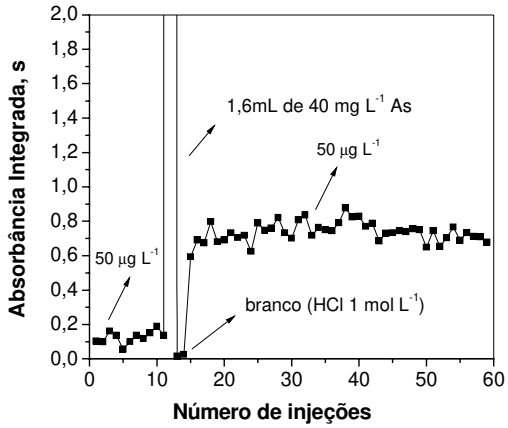


Figura 7: Estudo da estabilidade do sinal analítico de As 50 µg L^{-1} após a injeção de um padrão concentrado de As (40 mg L^{-1}).

4.2. ESTUDO DA ESTABILIZAÇÃO DA TEMPERATURA DO ATOMIZADOR INCONEL600®

Foi observado que era necessário um aquecimento do atomizador na chama ar-acetileno do equipamento por *ca.* 30 min, no início de cada dia de trabalho, para se alcançar a sensibilidade atingida, para um padrão de As 50 μg L^{-1}, após a única injeção do padrão concentrado de As, como mostrado anteriormente. Devido a esse fato, foi inferido que uma estabilização térmica do atomizador INCONEL600® poderia estar sendo alcançada, assim esta foi verificada como descrito anteriormente no item 3.3 do procedimento experimental. O estudo realizado está ilustrado na figura 8. Pelo gráfico, observa-se que a estabilização do sinal analítico ocorre já nos primeiros 5 min de aquecimento, sendo descartada a hipótese de que poderia ser a estabilidade térmica a responsável pelo aumento do sinal analítico no decorrer dos 30 min de aquecimento, sendo assim este fenômeno pode ser atribuído a outro fator.

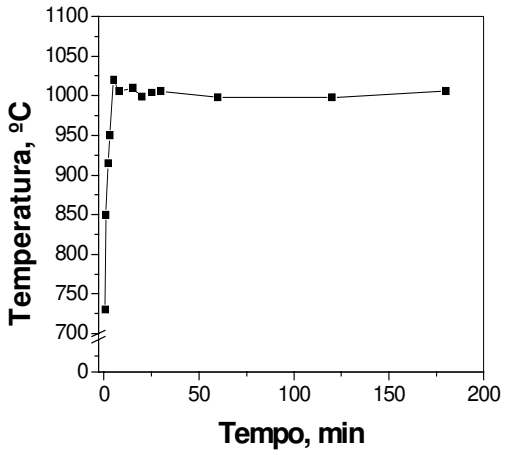


Figura 8: Estudo da estabilidade da temperatura no tubo INCONEL600®.

4.3. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO

4.3.1. OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS

As condições iniciais das variáveis físicas do sistema foram: 1600 μL de volume injetado, 120 mL min^{-1} de gás de purga, 4 mL min^{-1} de vazão de H_2O no nebulizador,

11,4 mL min^{-1} de vazão de solução carregadora, 30 cm de bobina de reação, proporção de 3:10 de acetileno:ar, capilar de 1 mm d.i., tubo INCONEL600® com área total de furos de 67 mm^2.

4.3.1.1. Influência do volume injetado no sistema

Os diferentes volumes injetados no sistema (0,3 mL a 2,0 mL) foram estudados. Este estudo está ilustrado na figura 9. Por meio da mesma, pode ser constatado que as absorbâncias são diretamente proporcionais ao volume de As injetado. Portanto, pode-se decidir a quantidade de volume injetado baseado na concentração de As presente nas amostras, na sensibilidade necessária, bem como na freqüência analítica. Levando em consideração esses parâmetros foi selecionado um volume de 1600 µL. Este resultado está de acordo com o relatado na literatura [13].

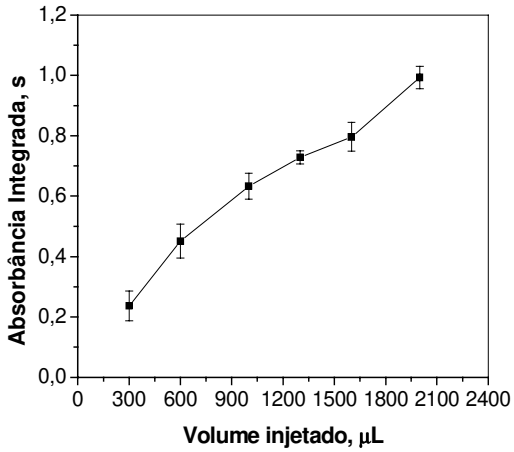
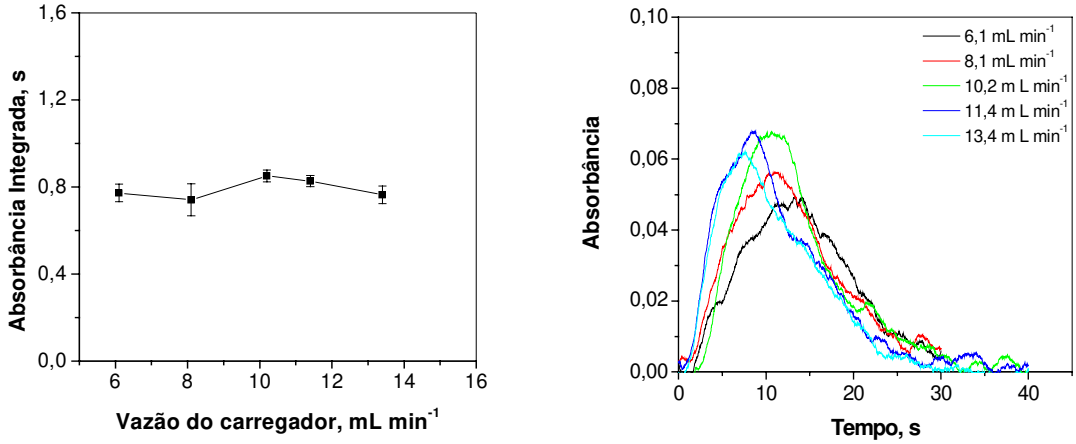


Figura 9: Influência do volume injetado no sistema. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.2. Influência da vazão do carregador

Com relação à vazão do carregador, pode-se dizer que a mesma não é uma variável muito influente no sinal analítico. Este estudo está ilustrado na figura 10. Foram avaliadas vazões que variaram de 6,1 a 13,4 mL min^{-1}. Por meio do estudo, pode-se dizer que o sinal analítico, em termos de absorbância integrada, não se alterou significativamente; entretanto, com altas vazões de carregador, uma melhora em termos de perfil sinal, ou seja, sinal mais bem definido, foi observado, como ilustrado na figura

10B. Neste caso, a vazão de 11,4 mL min^{-1} apresentou um aumento no sinal analítico de 7% e um aumento na freqüência analítica de 16%, em relação a vazão de 6,1 mL min^{-1}. Portanto, com base nas justificativas a cima apresentadas, ficou estabelecida como condição de trabalho uma vazão de 11,4 mL min^{-1}.



(A) (B)

Figura 10: (A) Influência da vazão do carregador, (B) Perfil de sinal analítico a diferentes vazões de carregador. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.3. Influência do comprimento da bobina de reação

O tempo de contato entre o padrão e o redutor é determinado pelo comprimento da bobina de reação. Este deve garantir que todo o analito de interesse seja convertido em hidreto. Os comprimentos da bobina de reação estudados foram: 10, 30, 50, 70 e 90 cm, como pode ser verificado na figura 11. Apesar da importância desta variável, pode-se observar que o comprimento da bobina de reação não influencia significativamente o sinal de absorbância integrada, devido à rápida formação da arsina. Portanto, foi escolhida como condição de trabalho uma bobina de 30 cm.

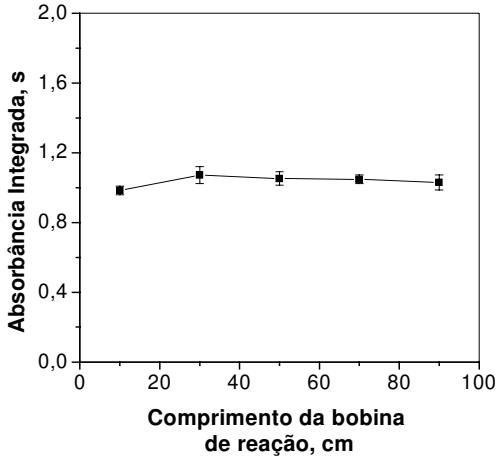


Figura 11: Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.4. Influência das proporções de ar-acetileno

Posteriormente, foi verificada a influência da proporção da composição da chama ar-acetileno na atomização da arsina e os resultados estão mostrados na figura 12. As vazões de acetileno e ar foram variadas em 1 - 3 L min^{-1} e 8 -12 L min^{-1}, respectivamente. É importante ressaltar que não foi possível estudar vazões de acetileno acima de 3 L min^{-1}, devido ao elevado sinal de fundo. Esta estudo mostrou, que a melhor vazão de acetileno foi a de 3 L min^{-1}, apresentando um aumento no sinal analítico de 68% em relação a vazão de 2 L min^{-1}, bem como a melhor vazão de ar foi de 10 L min^{-1}, com queda de 16% no sinal analítico para vazões maiores que 10 L min^{-1}, ou seja, a melhor proporção de ar-acetileno é uma chama redutora. Observou-se que com um mínimo de acetileno e com elevada vazão de ar, o sinal analítico de As decresceu drasticamente. Este fato pode ser possivelmente explicado pela queda na formação de radicais hidrogênio, ou até mesmo pela formação de óxido de arsênio [19]. Isso indica uma forte evidência que o mecanismo de atomização da arsina que ocorre no atomizador INCONEL600®, é o mesmo do QTA, ou seja, por meio de radicais de hidrogênio [1]. Neste caso, mais favorecida pelo fato do hidreto estar em contato não só com os radicais provenientes do redutor, mas, também, com àqueles provenientes da chama, pois esta penetra parcialmente por meio dos furos presentes no atomizador. Por outro lado, pode-se verificar que um mínimo de oxigênio é necessário, sendo que

alguns autores relatam que o oxigênio tem papel de oxidar o hidreto do analito à átomo [79]. Este resultado está concordante com o relatado no estudo do mecanismo de atomização da arsina realizado por Welz e Melcher [80]. Eles verificaram que ao aquecer a amostra até a ebulição por 15 min e antes de reagir com THB, o sinal analítico apresentou uma grande queda. Esse resultado levou a conclusão de que o oxigênio dissolvido na amostra é importante para a atomização da arsina. Entretanto, o hidrogênio é necessário para evitar a formação de óxido de arsênio.

Os autores sugerem que sem hidrogênio a arsina é apenas decomposta, mas não atomizada, se for alcançada a temperatura de 1700 ºC. A temperatura do QTA favorece a decomposição da arsina em tetrâmeros e dímeros como segue [19]:

$$As_4 \leftrightarrow 2\ As_2 \leftrightarrow 4As$$

Esse fato foi observado em experimentos realizador por Akman *et al.* [81] ao estudar o mecanismo de formação de átomos ao introduzir diretamente arsina em forno de grafite.

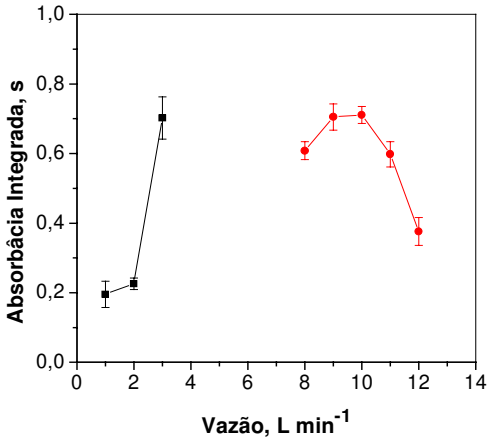


Figura 12. Influência das vazões de ar-acetileno. ▬■▬ Variação da vazão de acetileno (vazão de ar fixa em 10 L min^{-1}); ▬●▬ e variação da vazão de ar (vazão de acetileno fixa em 3 L min^{-1}). Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.5. Influência da vazão de gás de arraste

Esta variável é de grande importância, uma vez que o gás de arraste é o responsável pelo transporte do hidreto até o caminho óptico. Este estudo está ilustrado na figura 13, e observa-se que é necessária uma vazão de argônio, de aproximadamente 40 mL min^{-1} para o transporte da arsina até o atomizador. Entretanto, vazões muito maiores podem favorecer a rápida expulsão do hidreto do atomizador, diminuindo a população de átomos dentro do mesmo, com conseqüente queda no sinal analítico de 27% à partir de uma vazão de 86 mL min^{-1}.

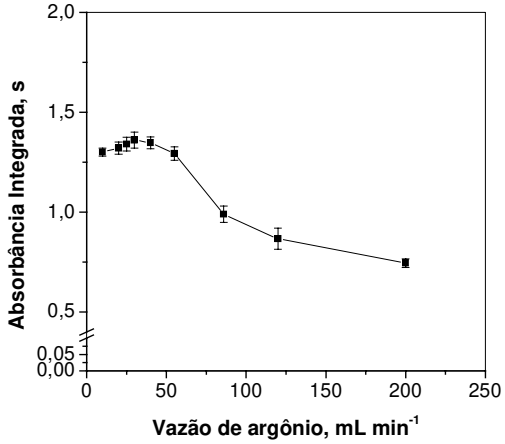
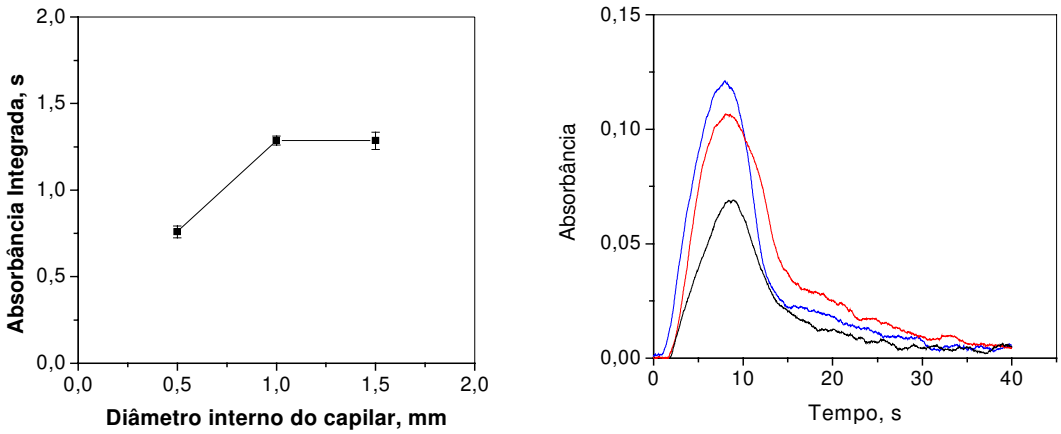


Figura 13: Influência da vazão de gás de arraste. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.6. Influência do diâmetro interno do capilar

Três diferentes diâmetros internos (d.i.) de capilar cerâmico foram estudados, 0,5; 1,0 e 1,5 mm. Analisando a figura 14, observa-se que o método apresentou mesmo sinal analítico com os dois capilares de maior diâmetro (1,0 e 1,5 mm); no entanto, o capilar de 1,5 mm d.i. foi o escolhido como condição de trabalho devido a melhora no perfil de sinal (figura 14B). O que pode estar acontecendo é que com diâmetros menores a passagem do hidreto até o tubo atomizador pode ser dificultada e retardada. Assim, o hidreto pode ficar em contato com a fase aquosa da cela de separação gás-líquido por mais tempo e ser facilmente hidrolisado. Desta forma, uma menor quantidade de hidreto é introduzida no atomizador, com conseqüente redução do sinal analítico.



(A) (B)

Figura 14: (A) Influência do diâmetro interno do capilar, (B) Perfil de sinal analítico com capilar de 0,5 mm ; 1,0 mm e 1,5 mm de d.i. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.7. Influência da vazão de nebulização de água desionizada

Para a aplicação do tubo na chama na geração de hidretos, é adequado o uso de uma nebulização de água desionizada na câmara de nebulização do equipamento de F AAS, para evitar superaquecimento do sistema de nebulização do mesmo. Foram estudadas vazões de 2; 3,5; 4 e 5 mL mim^{-1}. Esse estudo está ilustrado na figura 15, e verificou-se que a partir da vazão de 3,5 mL min^{-1} de água houve uma diminuição do sinal analítico de 28% (em comparação a vazão de 2 mL min^{-1}) e aumento do sinal de fundo, como pode ser verificado pela figura 15B. Portanto, a melhor vazão foi otimizada em 2 mL min^{-1}.

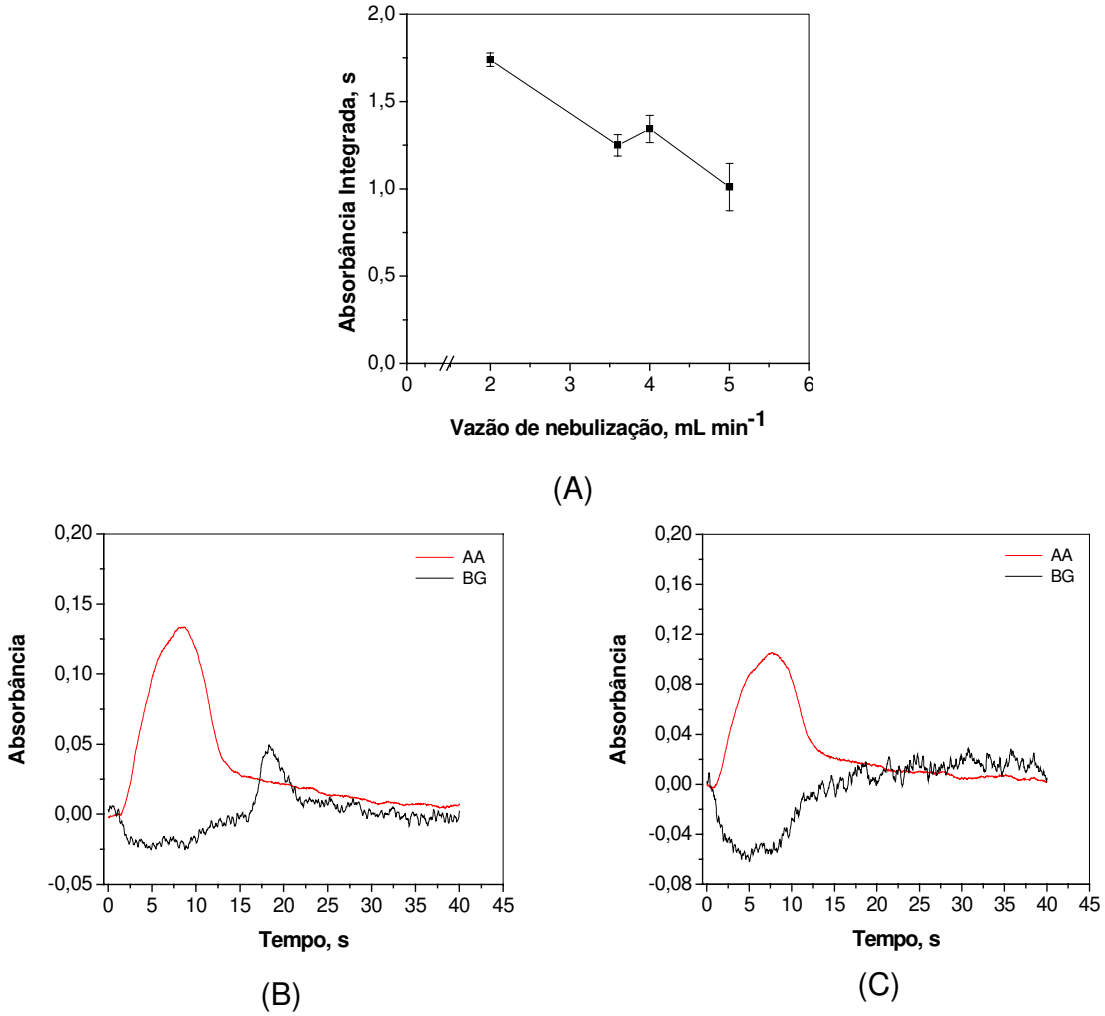


Figura 15: (A) Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização; (B) Perfil de sinal à uma vazão de 2,0 mL min^{-1}; (C) Perfil de sinal à uma vazão de 3,6 mL min^{-1}. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.1.8. Otimização da área total de furos do atomizador INCONEL600®.

Como descrito anteriormente, o atomizador apresenta seis furos na parte inferior para a entrada parcial da chama; portanto, foram avaliadas diferentes áreas desses furos. Foram testados atomizadores sem furo e com furos de diferentes áreas, tais como: 19, 43, 67, 91 e 115 mm^2. Essas áreas correspondem à soma das áreas de cada furo do atomizador, como descrito anteriormente na parte experimental. A figura 16 mostra que a área total de furo de 43 mm^2 foi a que apresentou melhor resultado em termos de absorbância integrada. Isto evidencia que a introdução da chama no

atomizador favorece a atomização da arsina. A partir de áreas maiores que 67 mm^2, houve uma queda do sinal analítico de 15%, ou seja, com uma grande quantidade de chama no interior do atomizador, pode haver maior quantidade de moléculas de oxigênio favorecendo a formação de óxido de arsênio, como mostrado pela reação a baixo:

$4As + 3O_2 \rightarrow 2As_2O_3$ $\Delta^{o}G_f = -275{,}36$ kcal mol^{-1}

Este resultado está concordante com o apresentado no item 4.3.1.4 deste capítulo [19].

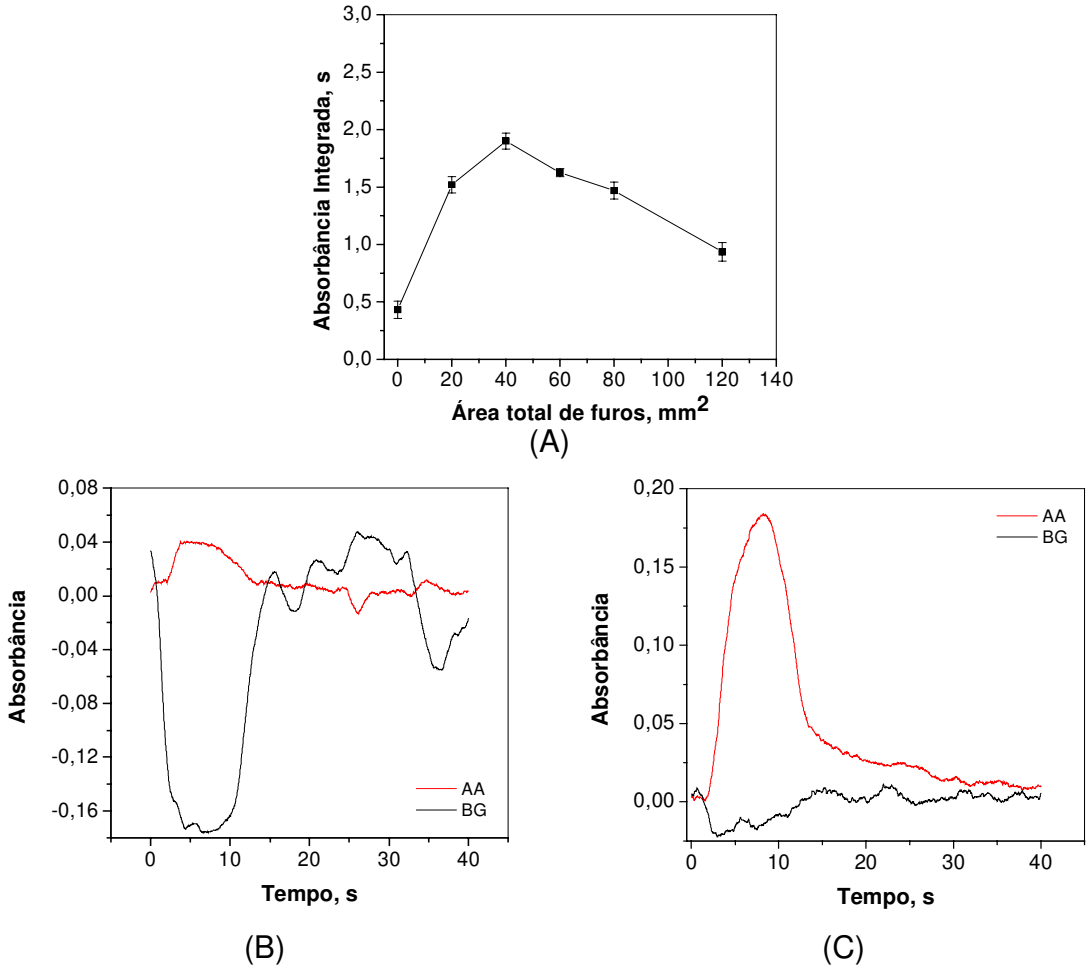


Figura 16: (A) Influência da área total de furos do atomizador; (B) Perfil de sinal com atomizador sem furo; (C) Perfil de sinal com atomizador com 43 mm^2 de área total de furos. Condições empregadas: Solução de As 50 µg L^{-1}, HCl 1 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.2. OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS

4.3.2.1. Influência da natureza do ácido

O ácido clorídrico é o ácido mais empregado para a geração de hidretos em presença de um redutor [1]. Por outro lado, é importante o estudo de outros ácidos, tais como, nítrico e sulfúrico, por serem bastante empregados nas decomposições das amostras. Portanto, a avaliação dos mesmos foi realizada, mantendo-se fixa a concentração para todos os ácidos em 1,4 mol L^{-1}. Por meio da tabela 5, observa-se que a presença de ácidos oxidantes afeta o sinal analítico, sendo que a maior interferência foi causada pelo ácido nítrico. Uma explicação para a diminuição do sinal analítico com o uso de ácidos oxidantes é um consumo de redutor (tetrahidroborato de sódio) por parte desses ácidos, comprometendo a geração de arsina [1].

Tabela 5: Influência da natureza dos ácidos na formação de arsina. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, (1% (m/v) $NaBH_4$, 0,8%, (m/v) NaOH)

Tipo de ácido (1,4 mol L^{-1})	Absorbância Integrada	Recuperação de As (%)
HCl	1,91	-
HNO_3	1,46	76
H_2SO_4	1,89	99

Posteriormente, foi verificada a melhor concentração de ácido clorídrico para a geração da arsina. Por meio da figura 17, pode-se perceber que a partir de uma concentração de HCl de 1,4 mol L^{-1} o sinal analítico permaneceu praticamente inalterado, sendo esta a concentração de HCl selecionada como condição ótima de trabalho.

O estudo desta variável é significativo para a geração de hidretos, pois, em concentrações menores de ácido, pode haver interferências por parte de metais de transição e outros elementos formadores de hidretos que possam estar presentes nas amostras [1].

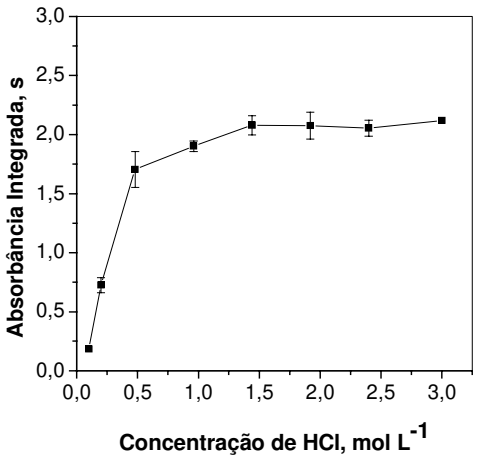


Figura 17: Influência da concentração de ácido clorídrico. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,8% (m/v).

4.3.2.2. Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio

O tetrahidroborato de sódio é o redutor mais empregado na geração de hidretos [1]. Portanto, foi estudado o efeito das diferentes concentrações do mesmo na formação da arsina. A figura 18 mostra os resultados obtidos, sendo que a concentração que apresentou maior sinal analítico foi a de 0,7% (m/v), sendo esta a concentração selecionada como ótima. A partir de uma concentração de 1,0% (m/v) de tetrahidroborato de sódio, há uma queda no sinal analítico de 10%. Isso porque em concentrações elevadas de redutor, o que ocorria era a formação de grande quantidade de gás hidrogênio, tornando a reação mais turbulenta na cela de separação gás-líquido, com a condução de vapor de água até o tubo de teflon que liga a mesma e o capilar. Além do mais, pode ocorrer interferência por parte dos metais de transição presentes nas amostras, pois os mesmos também podem reagir com o redutor que está em excesso, como será discutido no decorrer deste Capítulo. Por outro lado, em concentrações muito baixas, há insuficiência de redutor para a formação do hidreto, ou seja, nem todo analito é convertido em hidreto, havendo queda no sinal analítico, como pode ser verificado por meio da figura 18 em concentrações abaixo de 0,7% (m/v) de $NaBH_4$. Vale ressaltar que não foi estudado outros tipos de redutor, devido às limitações apresentadas pelos mesmos e como relatado na parte de revisão bibliográfica de trabalhos apresentados na literatura [19].

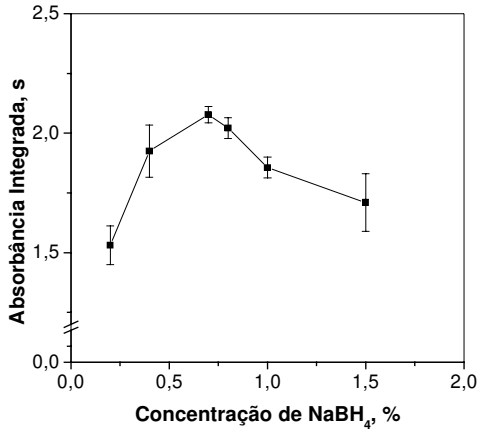


Figura 18: Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1,44 mol L^{-1}, NaOH 0,8% (m/v).

4.3.2.3. Influência da concentração de hidróxido de sódio

O hidróxido de sódio é empregado no preparo da solução de tetrahidroborato de sódio para evitar a hidrólise do mesmo [1]. Portanto, por este motivo, é importante verificar a concentração ideal de NaOH, bem como a sua influência na geração da arsina. As concentrações estudadas variaram de 0,2 a 1,5 % (m/v).

A figura 19 mostra que as concentrações do agente estabilizante não apresentaram influência significativa no sinal analítico de As (variação máxima do sinal analítico de 6%); portanto, a concentração de 0,8% (m/v) foi a escolhida como condição de trabalho.

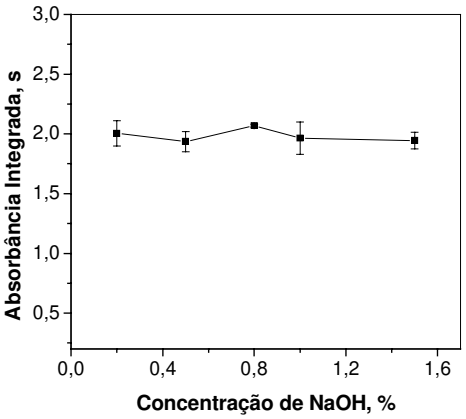


Figura 19: Influência da concentração do hidróxido de sódio. Condições empregadas: Solução de As 50 μg L^{-1}, HCl 1,44 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,7% (m/v).

4.4. DESEMPENHO ANALÍTICO

Terminadas todas as otimizações, uma curva analítica foi obtida, a qual está ilustrada na figura 20. As figuras de mérito do método, estão apresentadas na tabela 6. O LD e LQ foram calculados segundo a recomendação da IUPAC [82], ou seja, baseado no desvio padrão (σ) para 10 leituras do branco analítico, bem como na sensibilidade do método, como apresentado pelas equações 8 e 9, respectivamente:

$$LD = 3x\,\sigma_{branco}/s^{1} \qquad \text{Equação 8}$$

$$LQ = 10x\sigma_{branco}/s^{1} \qquad \text{Equação 9}$$

[1] s = coeficiente angular da curva analítica

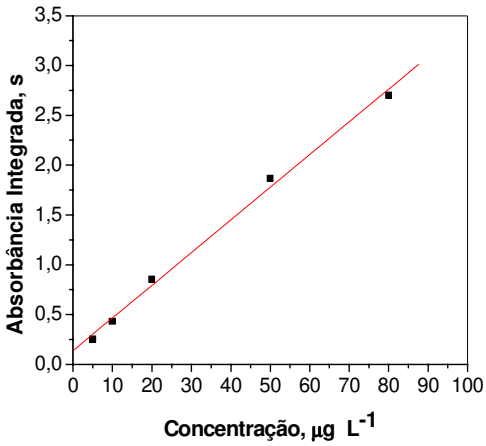


Figura 20: Curva analítica para As, obtida nas condições otimizadas do método.

Tabela 6: Parâmetros analíticos após a otimização do método

Equação da reta	A=0,1379 + 0,03283C
Coeficiente de regressão(R^2)	0,9978
Limite de detecção ($\mu g\ L^{-1}$)*	2,3
Limite de quantificação ($\mu g\ L^{-1}$)**	7,7
Faixa linear ($\mu g\ L^{-1}$)	7,7 - 80
RSD (%)#	< 5,8
Freqüência analítica (determinações h^{-1})	64

*LD e **LQ para 10 leituras de branco;
Precisão baseada na repetitividade, n=6;
C : concentração de As.

O método apresentou uma faixa linear até 80 $\mu g\ L^{-1}$ e um coeficiente de regressão (R^2) de 0,9978. Para o cálculo da precisão (repetitividade), foram consideradas as réplicas das amostras empregadas no teste de exatidão do método.

Os parâmetros analíticos obtidos por meio do método aqui proposto estão de acordo com o reportado por Grinberg *et al.* [6], ou seja, o contato da chama com a arsina, apresentou uma melhora em termos de faixa linear, mas por outro lado, uma piora na sensibilidade do método, quando comparado com um tubo de quartzo convencional, ou seja, quando não há contato da chama com a arsina. Esses resultados sugerem que pode estar havendo uma interação entre arsina e a chama que penetra parcialmente no atomizador.

4.5. AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES

Como relatado no item 2.2 da revisão bibliográfica, diversos elementos químicos presentes nas amostras podem interferir na geração da arsina, ou até mesmo na atomização da mesma. Assim, diversas soluções binárias foram preparadas e as concentrações estudadas, foram baseadas no universo das amostras empregadas neste Capítulo. Os resultados estão ilustrados na tabela 7, e não foram considerados como interferentes, os elementos que proporcionaram uma recuperação entre 90 e

110%. Como visto, os elementos que mais apresentaram interferência negativa foram o Cu, Fe e Ni. No entanto, a interferência maior foi ocasionada pelo Fe, com uma redução do sinal analítico do As de 67%, à uma proporção de 1:10 de analito:interferente.

Esta interferência provavelmente ocorre na fase líquida, pois não houve efeito de memória. Estes resultados estão de acordo com alguns trabalhos da literatura. Daus *et al*. [83], relatam que somente o oxigênio não é capaz de oxidar o As, os íons ferrosos são oxidados por meio desse oxigênio dissolvido e os íons férricos acabam oxidando o arsenito. Por outro lado, Welz e Melcher [84], relataram claramente a interferência dos três elementos, Fe, Cu e Ni na determinação de As em baixas concentrações de ácido clorídrico. Os mesmos destacam que com o aumento da concentração de HCl para 5 mol L^{-1}, foi obtida uma recuperação de As de até 91% na presença desses interferentes. Uma explicação para isso poderia ser a formação de íons complexos do tipo $(MCl_2)^-$ entre os interferentes e o ácido clorídrico em excesso, onde o M é o metal de transição (Cu, Fe ou Ni, neste caso).

Vale ressaltar que não foi realizado um estudo de mascarantes para essas interferências, pelo fato de ter sido utilizada uma mistura de iodeto de potássio e ácido ascórbico, para promover a redução do As(V) a As(III). Esta mistura, segundo a literatura [73] também possui a função de mascarante, uma vez que estes podem complexar ou reduzir os interferentes ao menor estado de oxidação antes dos interferentes entrarem em contato com o redutor borohidreto de sódio, deixando este último exclusivamente para a formação da arsina.

Tabela 7: Carta de seletividade para a determinação de As 50 μg L^{-1}.

Interferente	Proporção As: interferente	Recuperação % (n=3)
Bi	1:10	109 ± 2
	1:50	100 ± 2
Cu	1:10	99 ± 7
	1:50	79 ± 1
	1:100	80 ± 6
Fe	1:10	33 ± 6
	1:50	33 ± 1
	1:100	35 ± 5
Ni	1:10	77 ± 5
	1:50	78 ± 6
	1:100	60 ± 4
Pb	1:10	101 ± 4
	1:50	98± 3
	1:100	93 ± 11
Se	1:10	102 ± 3
	1:50	113 ± 7
Zn	1:10	97 ± 7
	1:50	100 ± 4
	1:100	100 ± 5

4.6. TESTE DE EXATIDÃO PARA O MÉTODO PROPOSTO PARA DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO

Foram selecionados três materiais certificados para o teste de exatidão do método proposto. A tabela 8 mostra que a quantificação do As, nas diferentes amostras, apresentou uma concordância com o valor de referência certificado de 95% segundo os testes *t* e *F*.

Tabela 8: Resultados da quantificação de As nos materiais certificados obtidos pelo método proposto, (n=3).

Amostra	Valor certificado ($\mu g\ g^{-1}$)	Valor Obtido ($\mu g\ g^{-1}$)[a]
Músculo de bacalhau (BCR 422)	21,1 ± 0,5	21,3 ± 3,2
Tecido de ostra (SRM 1566a)	14,0 ± 1,2	16 ± 2
Sedimento de rio (BCR 320)	76,7 ± 3,4	85 ±14

[a] $X \pm t.\sigma/(n)^{1/2}$; n = nº de abertura de amostras

4.7. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

Com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura, foram obtidas diversas micrografias, bem como o mapeamento da superfície interna de um atomizador sem uso ou àquele (40 mm^2 de área total de furos) que foi empregado até o término do trabalho (*ca.* 2400 determinações). Como descrito anteriormente no item 3.9, as micrografias foram obtidas em diferentes partes do atomizador, e as mesmas estão apresentadas na figura 21. Todas apresentam um aumento de 100x, exceto a da parte central atrás (200x) e a da parte central frontal (500x).

Ao se comparar as micrografias da figura 21(A-D) com a 21E, observa-se que a liga do atomizador, após o uso, apresenta grande alteração, como aparecimento de partes desgastadas, manchas esbranquiçadas, bem como aumento do relevo da superfície interna. As partes escuras estão presentes também na liga INCONEL600® sem uso (figura 21E). As estrias presentes na liga INCONEL600® sem uso, provavelmente são devido ao processo de usinagem.

Essas alterações observadas na superfície interna do atomizador puderam ser mais esclarecedoras, após os resultados obtidos por meio de determinações semiquantitativas de um detector de Raios-X acoplado ao microscópio. Essas determinações foram obtidas em regiões com aumentos de 100x, uma vez que com esse aumento é possível obter informações do teor dos elementos presentes na

superfície da liga com uma boa representatividade. Os resultados estão presentes na figura 22.

A figura 22A, B e C apresenta a alteração de composição da liga usada para 6 elementos presentes tais como: níquel, carbono, oxigênio, cromo, ferro emanganês, e a figura 22D apresenta o teor desses elementos na liga sem uso. Comparando os resultados podemos verificar que há uma grande alteração na composição da liga após o uso para o desenvolvimento do método. Como exemplo, o teor de Ni, caiu de *ca.* 40% para *ca.* 2% em todas as partes do atomizador (lado esquerdo, central e direito). Por outro lado, o teor de oxigênio, bem como de cromo, passou de *ca.* 4% para *ca.* 65% e de *ca*. 9% para 20%, respectivamente. Esse resultado sustenta a hipótese sugerida no item 4.1, ou seja, a formação de algum composto do tipo $NiAs_2O_6$ após o consumo de níquel, e assim uma camada de óxido de cromo estar se formando e ficando mais evidente. Isso pode justificar o maior teor de oxigênio e cromo na superfície do atomizador usado. É importante destacar que o elemento As não foi detectado na liga usada.

Esse desgaste do elemento Ni, também pôde ser melhor verificado por meio de um mapeamento da superfície da parte central atrás do atomizador com aumento de 500x (vide figura 23), o qual mostra a distribuição dos elementos em uma área varrida pela sonda do microscópio. Comparando com os resultados da figura 24, a qual apresenta a distribuição dos elementos na liga INCONEL600® sem uso, podemos observar que a distribuição dos elementos químicos presentes na liga é bem uniforme, comprovando, mais uma vez, que após o uso a mesma apresentou desgaste de alguns elementos como níquel, carbono e ferro, e, por outro lado, os elementos oxigênio e de cromo ficaram mais evidentes.

A figura 22 também mostra que o teor de Mn e de Fe na liga, após o uso, também se alteraram. No tocante a concentração de Mn, é evidente que uma quantidade maior deste é detectada, se comparada com a liga nova, passou de 0,2 – 2,72%.

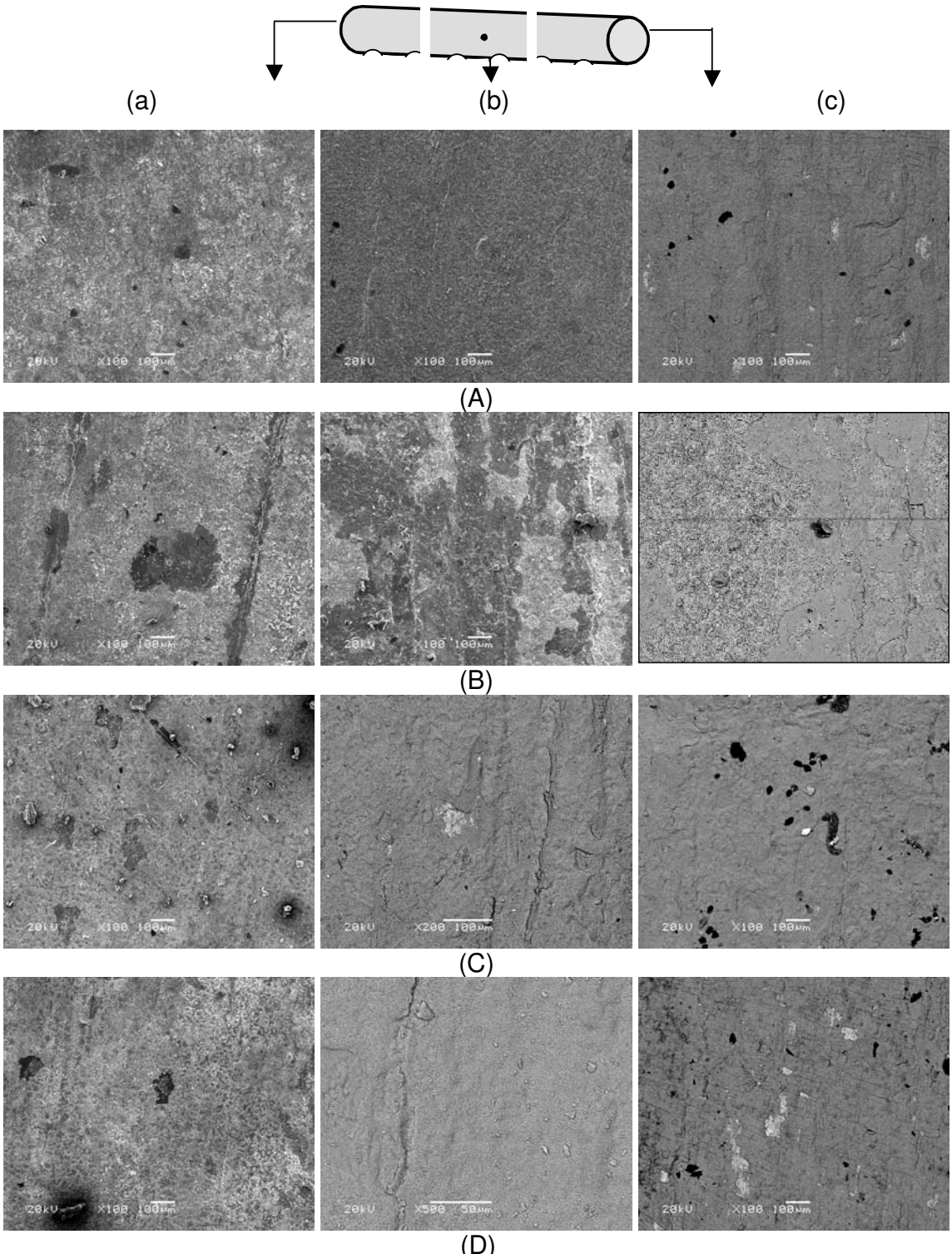
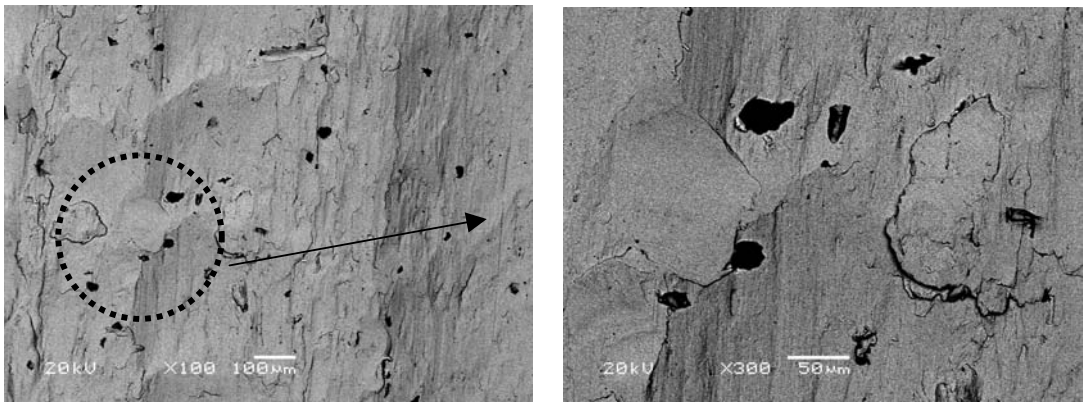


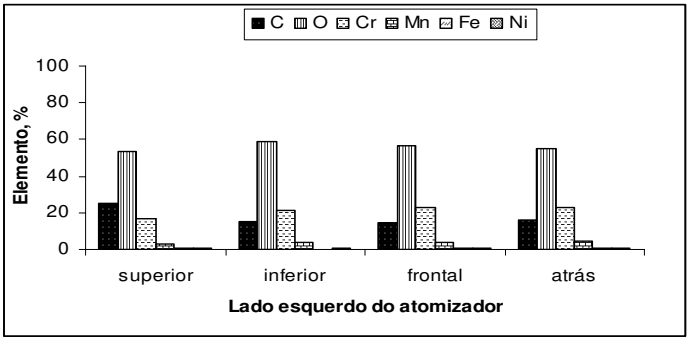
Figura 21: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador, (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x.



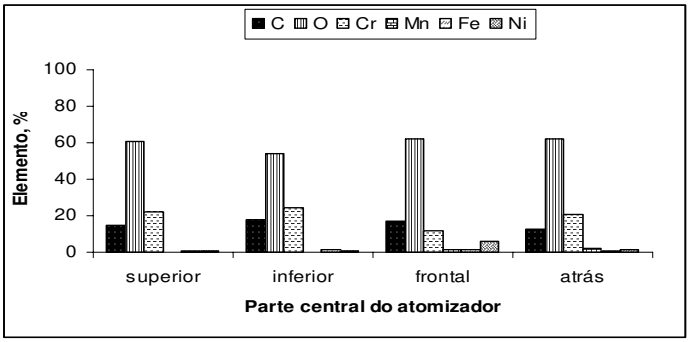
(E)

Figura 21 (continuação): Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo, central e lado direito do atomizador), (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x.

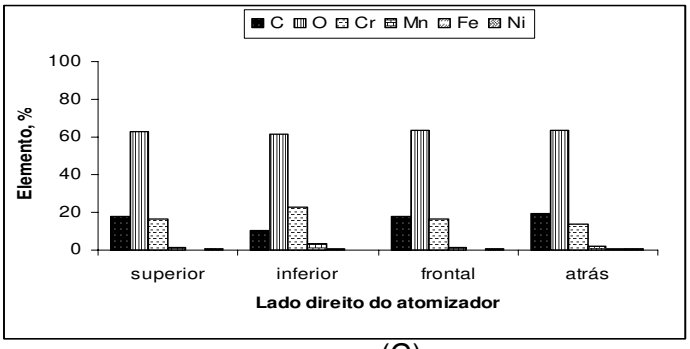
Assim, uma possível explicação, pode ser a formação de óxido de manganês, uma vez que a formação deste é grandemente favorecida na presença de oxigênio, como mostrado pela energia livre de Gibbs, (ΔG_{form}= - 450 kJ mol^{-1}), sendo, portanto, depositado sobre a superfície interna do atomizador [85]. Uma fonte deste elemento pode ser a própria amostra, cujas cartas de certificação apresentam manganês na sua constituição. Com relação ao teor de Fe, este diminuiu. Uma possível explicação para esse fato é também a possibilidade deste formar óxido, do tipo Fe_2O_3, na presença de oxigênio. Porém, este pode se apresentar de várias formas, sendo as mais importantes a α e a γ. A espécie (γ-Fe) se forma a temperaturas *ca.* 910 ºC, podendo se ligar ao carbono, formando um composto do tipo γ-grafite a temperaturas que variam de 723 ºC até 1015 ºC [85]. Assim o Fe da superfície pode estar sendo eliminado por meio da formação desse composto, uma vez que foi visível a formação de fuligem, dentro do atomizador, no decorrer do trabalho.



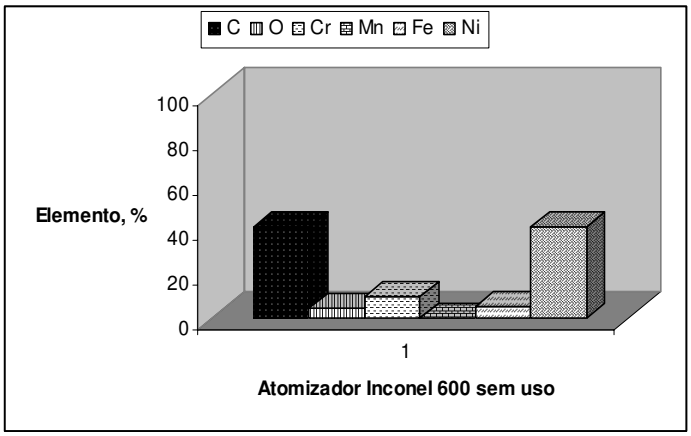
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 22: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições (A-C) e antes do uso (D).

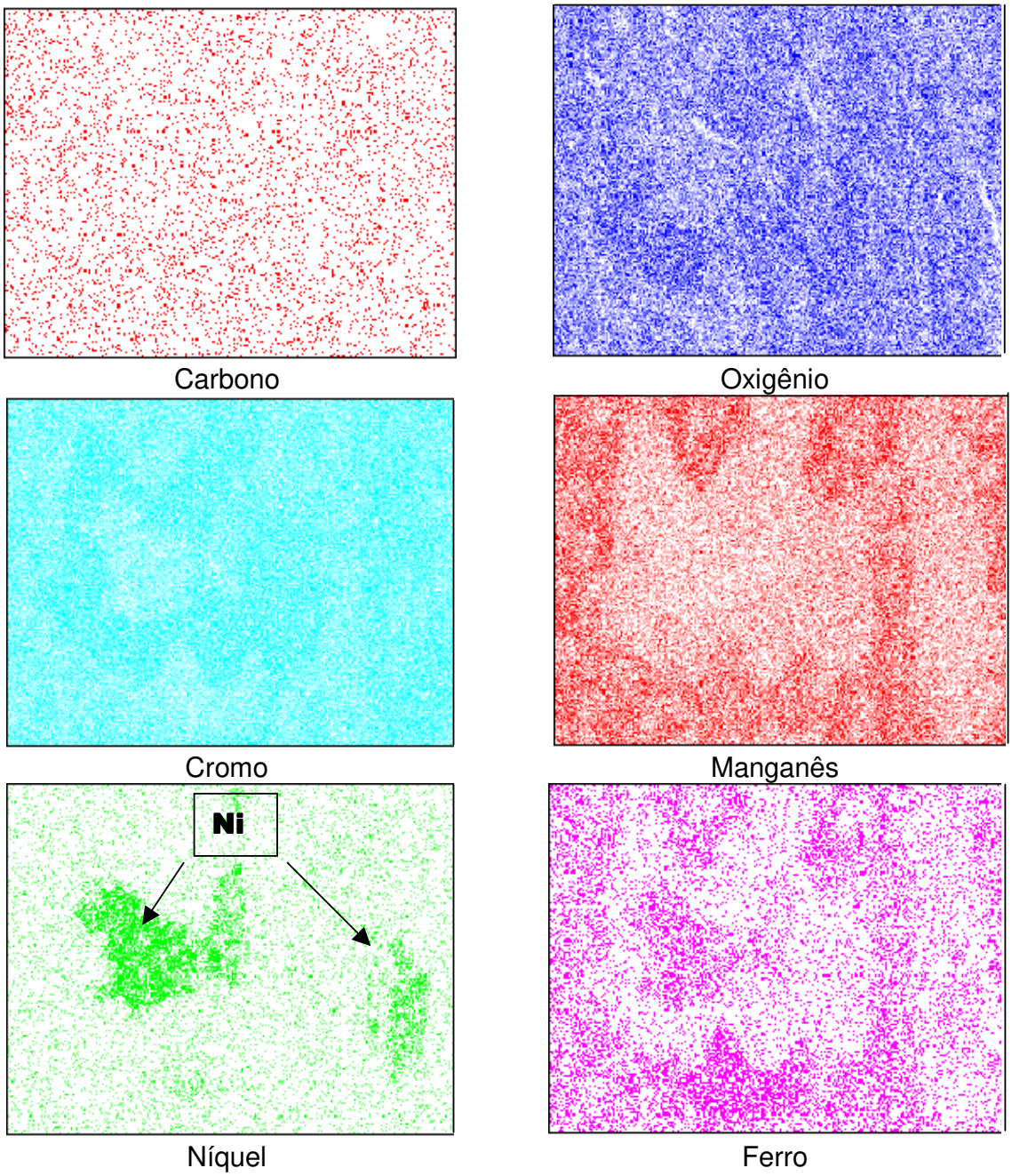
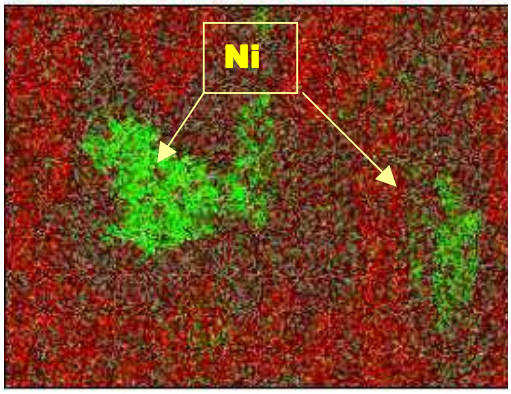
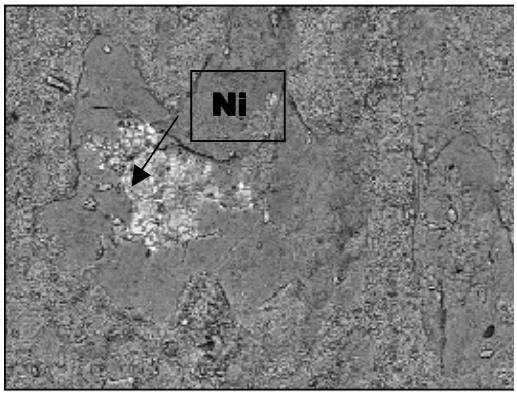


Figura 23: Distribuição dos elementos químicos na superfície interna da parte central atrás do atomizador com *ca*. 2400 determinações. Aumento de 500x.

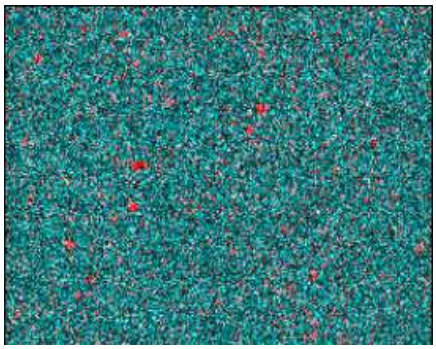


Níquel e Manganês

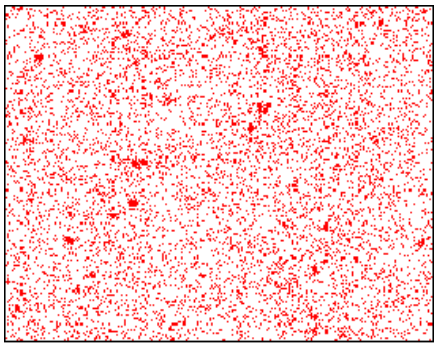


Escala de cinza com todos os elementos

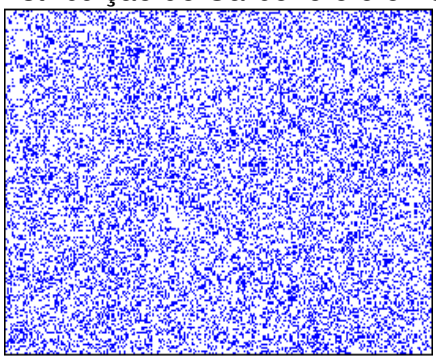
Figura 23 (continuação): Distribuição dos elementos químicos na superfície interna da parte central atrás do atomizador com *ca.* 2400 determinações. Aumento de 500x.



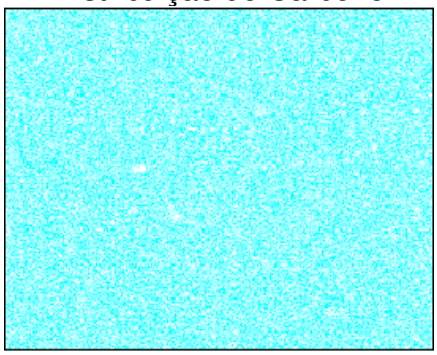
Distribuição de Carbono e cromo



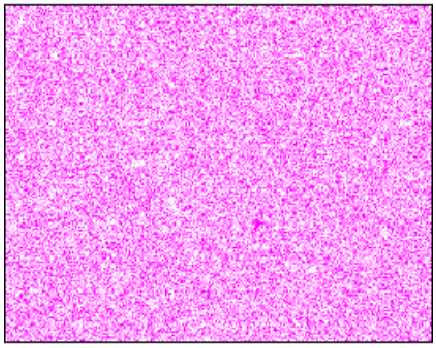
Distribuição de Carbono



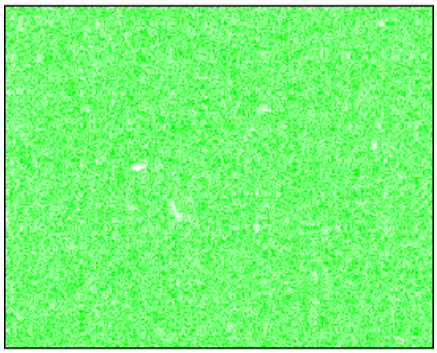
Distribuição de Oxigênio



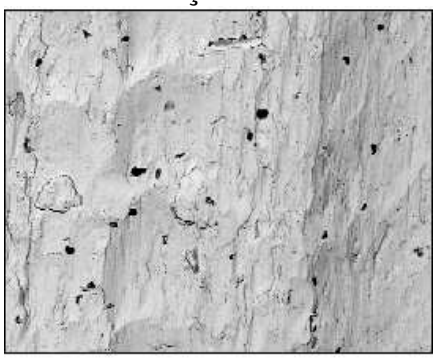
Distribuição de Cromo



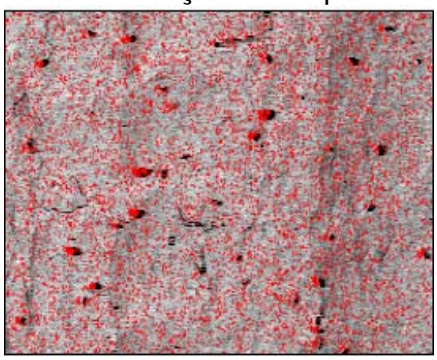
Distribuição de Ferro



Distribuição de Níquel



Distribuição de todos os elementos em escala de cinza



Distribuição de todos os elementos em escala de cinza. (ênfase em vermelho, a distribuição do carbono)

Figura 24: Distribuição dos elementos químicos na superfície do atomizador sem uso. Aumento de 100x.

5. CONCLUSÃO PARCIAL

Neste capítulo foram avaliadas todas as variáveis físicas e químicas do sistema empregado para a determinação de As, bem como o estudo com concomitantes e teste de exatidão do método.

A técnica apresentou-se adequada para a quantificação de As em baixas concentrações, uma vez que o limite de quantificação apresentado foi de 7,7 $\mu g\ L^{-1}$, com uma faixa linear, de 7,7 – 80 $\mu g\ L^{-1}$.

No tocante aos testes de interferência, foi possível verificar que àquelas oriundas do Cu, Ni e Fe foram verificadas, mesmo quando estes estão presentes em baixas concentrações; porém, os mesmos não causaram interferências nas amostras estudadas como mostrado pelo teste de exatidão do método, uma vez que foi empregada uma mistura de iodeto de potássio e ácido ascórbico para promover a redução do As(V) à As(III). Estes atuaram como agentes mascarantes para os interferentes presentes nas amostras.

O teste de exatidão comprovou a semelhança estatística dos resultados ao nível de confiança de 95%, segundo o teste *t,* para os materiais de referência certificados empregados.

Foi necessário um tratamento prévio do atomizador com um padrão concentrado de As, como descrito no decorrer deste Capítulo, para melhorar a sensibilidade do método.

Assim, o emprego do atomizador de liga INCONEL600® pôde ser empregado com eficácia para a determinação de As por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, devido às vantagens como tempo de vida do atomizador metálico, *ca.* 5000 h, baixo custo, (*ca.* R$ 14,00), bem como boa resistência, se comparado a outros atomizadores propostos para atomização dos hidretos, devido à constituição do mesmo.

No tocante às micrografias, verificou-se que a superfície interna do atomizador se alterou significativamente após o uso. Provavelmente devido à facilidade da formação de compostos de arsenatos de níquel, como sugerido anteriormente.

Também, os resultados aqui apresentados sugerem que o mecanismo de atomização da arsina é o mesmo do atomizador convencional de quartzo, ou seja, via radicais de hidrogênio. Estes resultados também mostram que mais experimentos são necessários para a confirmação dessas hipóteses.

Capítulo 2

Tubo metálico como atomizador na técnica HG-AAS: determinação de Bismuto

1. OBJETIVO

Este capítulo visa o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação de Bi total, empregando um tubo de liga metálica como atomizador na técnica de HG-AAS. Primeiramente, foram avaliadas as variáveis físicas, e, posteriormente, as variáveis químicas envolvidas no sistema proposto. Após as otimizações, foram obtidos os parâmetros analíticos, um estudo com concomitantes, bem como teste de exatidão do método com diferentes amostras incluindo de referência.

Ao final do trabalho, diferentes partes do atomizador metálico foram analisadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura acoplada com detector de Raios-X.

2. INTRODUÇÃO

Compostos de bismuto tem papel importante no tratamento gástrico. Os mesmos apresentam efeitos benéficos, tais como: aumento de secreção de muco e de HCO_3^-, inibição da atividade da pepsina, entre outros.

Foi verificado que o Bi promove a cicatrização de úlceras gástricas e duodenais, servindo, então, para o tratamento de úlceras. O subsalicilato de bismuto é empregado no tratamento da diarréia pelo fato dos sais de Bi adsorverem as toxinas bacterianas e, o salicilato apresentar ações antiinflamatórias. Apenas 1% do Bi é absorvido, sendo o restante excretado como sais insolúveis nas fezes [63]. Porém, a ingestão de Bi deve ser controlada, pois, em uso prolongado, o elemento pode se acumular no organismo e afetar principalmente o sistema hormonal, com a redução do hormônio testosterona, prejudicando o funcionamento dos testículos [86]. Em doses elevadas, o bismuto inorgânico e orgânico, também pode causar encefalopatia e nefropatia, respectivamente [87].

O Bi é também encontrado em ligas metálicas; sendo que, a qualidade destas é influenciada pela presença deste elemento. As ligas podem se tornar quebradiças quando resfriadas, se apresentarem mais de 0,0002% deste elemento. Por outro lado, a presença de Bi pode melhorar o processo de usinagem das ligas metálicas.

Muitas técnicas podem ser empregadas para a determinação do Bi em tais amostras, como: a gravimetria, a volumetria, a fotometria, entre outras. Estas, porém, requerem um elevado tempo de análise. Portanto, a técnica de HG-AAS, de interresse neste trabalho de Dissertação, pode ser uma alternativa eficiente para a determinação do Bi [88].

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Foi empregado o mesmo equipamento mencionado no Capítulo 1, e as condições de operação do equipamento foram as sugeridas pelo fabricante (comprimento de onda de 223,1 nm, fenda de 0,2 nm e corrente da lâmpada EDL de 300 mA). Os sinais obtidos foram em área integrada e corrigidas do sinal de fundo.

Para a realização das micrografias o mesmo microscópio eletrônico de varredura empregado no Capítulo 1 foi usado aqui.

Também foi empregado um microscópio eletrônico de transmissão (MET), marca Carl Zeiss e modelo CEM 902 em 80 kV. Uma tela de microscopia de transmissão, de ouro (300 mesh) foi usada como porta amostra. Um banho de ultra-som, marca Unique e modelo Maxiclean 1400 também foi empregado.

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS

O sistema proposto foi o mesmo empregado na determinação do As, bem como a configuração do atomizador e composição da respectiva liga metálica, com a exceção de que, neste caso, foi necessário o uso de um papel de filtro de grau analítico na parte superior da cela de separação gás-líquido. Também, a descrição do sistema é a mesma mencionada no item 3.2.1 do Capítulo 1, com a exceção de que, agora, foi usado um padrão de Bi para a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema.

3.3 MATERIAIS, REAGENTES, SOLUÇÕES

Os reagentes, materiais, e procedimento de limpeza das vidrarias mencionadas no primeiro Capítulo, foram empregados também neste.

Para a decomposição das amostras foi empregado, neste caso, além do ácido nítrico e clorídrico mencionados no Capítulo anterior, o peróxido de hidrogênio (p.a. Merck, Darmstadt, Alemanha).

Para a dispersão das amostras para a realização da SEM e da MET, foram empregados solventes isopropanol (p.a. J.T.Backer, Xalostoc, México) e água desionizada.

3.4. TESTE DE EXATIDÃO

Para realizar o teste de exatidão, foram utilizadas amostras de antiácido bisuisan (carbonato básico de Bi), e peptosil (subsalicilato de Bi), bem como amostras de liga de aço (materiais de referência SRM 361, 363 e 364), provenientes da NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA). Estas contém *ca*. 90% de Fe. Por outro lado, cada envelope de bisuisan, segundo o rótulo, contém: 3,223 g de carbonato de sódio, 0,739 g de carbonato de cálcio, 0,739 g de carbonato de magnésio, 0,178 g de carbonato básico de bismuto, 0,005 g de extrato seco de *Atropa belladona* e 0,091 g de extrato seco de *Rheum palmatum* (Ruibardo), mais excipientes como: mentol, ácido cítrico, dióxido de silício, glicolato de sódio, aroma, celulose microcristalina, álcool etílico, manitol, polivinilpirrolidona, sacarina sódica e polietilenoglicol.

O medicamento peptosil contém, segundo o rótulo, 262 mg de subsalicilato de bismuto e excipientes, os quais não são informados.

3.5. PREPARO DAS AMOSTRAS

3.5.1. AMOSTRAS DE ANTIÁCIDO

As amostras de bisuisan e peptosil utilizadas para a quantificação de Bi, foram moídas com almofariz, garantindo a sua homogeneidade. A massa de amostra pesada foi de 100 mg e os experimentos realizados em triplicata. As amostras de peptosil foram transferidas para béqueres e dissolvidas à quente, em 10 mL de HCl 5 mol L^{-1} até quase a secura. Estas foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, e uma alíquota de 16 µL desta solução foi transferida para um balão de 25 mL, completando-

se o volume com HCl 0,3 mol L^{-1}. A amostra de bisuisan foi pesada em frascos de Teflon, sobre as quais foram adicionados 2 mL de ácido nítrico concentrado e 1 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v). Houve uma pré-digestão de aproximadamente 40 min para não ocorrer reações violentas nos frascos de Teflon. Posteriormente, as amostras de bisuisan foram submetidas à radiação microonda empregando um forno de microonda tipo cavidade (Provecto Analítica, DGT 100 Plus), sendo o programa apresentado na tabela 9. Esse procedimento foi adotado pelo fato do medicamento não dissolver mesmo com adição de HCl e após ser submetido em um banho de ultra-som. Em seguida, os frascos de Teflon foram aquecidos em chapa de aquecimento à uma temperatura de aproximadamente 70 ºC até quase asecura para a eliminação do excesso de ácido e das espécies NO_x que poderiam estar presentes. Posteriormente, estas soluções foram transferidas para balões volumétricos de 250 mL e o volume completado com HCl 0,3 mol L^{-1}. Estas soluções foram diluídas 200 vezes para posterior quantificação de Bi.

Tabela 9: Programa para a decomposição assistida por radiação microonda para a amostra bisuisan.

Etapa	Tempo/min	Potência/W
1	5	200
2	5	400
3	5	790

3.5.2 AMOSTRAS DE LIGA DE AÇO

Para as amostras de aço, o procedimento foi adaptado de Ribeiro *et al.* [9]. Foram pesadas quantidades aproximadas de 500 mg e dissolvidas em 20 mL de água régia em béquer de 100 mL, sob aquecimento em chapa a *ca.* 70 ºC. A solução resultante foi transferida a um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com HCl 1 mol L^{-1}. Posteriormente, as soluções foram filtradas e analisadas por meio do método proposto para quantificação de Bi.

3.6 DESEMPENHO ANALÍTICO

O desempenho analítico foi verificado da mesma maneira descrita no item 3.7 do primeiro Capítulo.

3.7. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi iniciado com a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema proposto. Tal otimização foi realizada em termos de absorbância integrada e perfil de sinal, para uma solução de concentração de Bi 50 μg L^{-1}. As variáveis estudadas estão apresentadas na tabela 10. O material empregado para a confecção, tanto das alças de amostragem como da bobina de reação, foi de polipropileno.

Tabela 10: Variáveis estudadas para determinação de Bi.

Variáveis estudadas	**Faixa estudada**
Volume injetado / μL	300 - 2000
Vazão de carregador / mL min^{-1}	6,1 - 13,4
Comprimento da bobina de reação / cm	10 - 90
Vazão de acetileno / L min^{-1}	1 - 4
Vazão de ar / L min^{-1}	8 - 12
Vazão de gás de arraste / mL min^{-1}	12 - 182
Diâmetro interno do capilar / mm	0,5 - 1,5
Vazão da água de nebulização / mL min^{-1}	2 - 6
Área total de furos do atomizador / mm^2	0 - 115
Concentração de ácido / mol L^{-1}	0,12 – 1,92
Concentração de $NaBH_4$ / %	0,02 - 1,5
Concentração de NaOH / %	0,02 - 1,5

3.8. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

3.8.1 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA A SEM E A MET

As amostras para a realização das micrografias foram preparadas semelhantemente ao apresentado no Capítulo 1, com a exceção das micrografias obtidas para a fuligem gerada no atomizador. Neste caso, a amostra (fuligem) foi dispersa em iso-propanol (JTBacker), com o emprego de um banho de ultra-som, por 2 min. Posteriormente, uma gota da amostra, em meio ao solvente, foi distribuída no porta-amostra e deixada evaporar, seguida da metalização da mesma com ouro.

Para a obtenção das micrografias por meio da MET, a amostra foi proveniente da superfície do atomizador, ou seja, uma região foi raspada e o pó resultante foi coletado e disperso somente em água destilada por 5 min em um banho de ultra-som, e uma gota foi colocada sobre a tela de ouro coberta com filme de parlódio e uma fina camada de carbono amorfo, depositada por evaporação. Após total evaporação da água a análise por MET foi realizada.

As micrografias foram obtidas da mesma forma como descrito e ilustrado no item 3.9 do primeiro Capítulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. NATUREZA DO TUBO METÁLICO

Para o elemento Bi, também foi verificada a influência do atomizador metálico, com liga de Ni 99,9% (m/m) e com liga INCONEL600®, no sinal analítico. Pode-se observar por meio da figura 25A e B, que o comportamento com os dois atomizadores foi muito semelhante, tanto em termos de sinal de absorbância integrada, quanto de perfil de sinal analítico. A injeção do padrão concentrado de Bi também foi testada, da mesma forma que para o As. Percebeu-se que após a injeção de um padrão de Bi

40 mg L^{-1}, e após sucessivas leituras do branco, o sinal de absorbância para um padrão de Bi 50 µg L^{-1} não se alterou. Ao contrário, houve uma piora significativa em termos de perfil de sinal, como pode ser visto na figura 26. Portanto, para a otimização do método proposto para a determinação de Bi, o atomizador de liga INCONEL600®, sem injeção de padrão concentrado, foi selecionado para a continuidade do trabalho.

Por meio desse resultado, pode-se dizer que, provavelmente não há a formação de compostos de bismuto com os elementos que compõem a liga metálica, como o apresentado para As, ou seja, a superfície interna do atomizador não afeta a rota de atomização da bismutina.

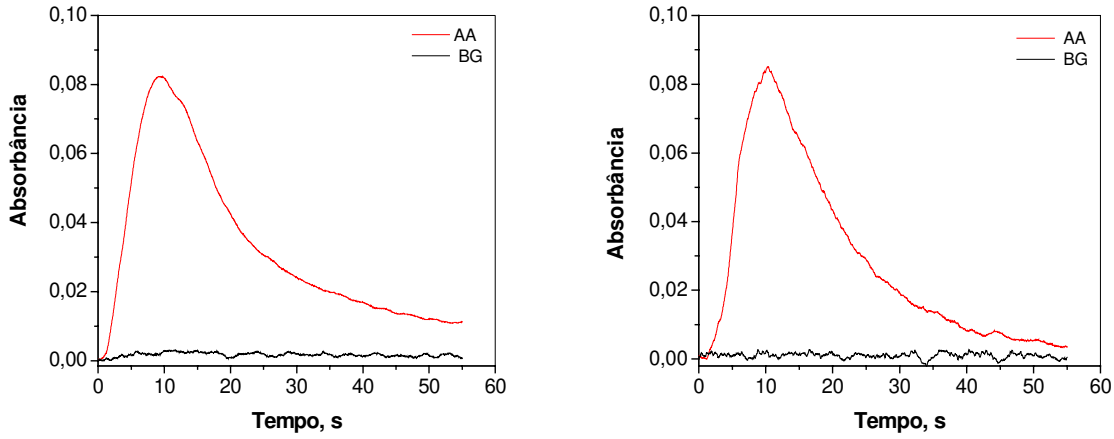


Figura 25: (A) Perfil de sinal com atomizador de Ni 99,9% (m/m), (Ab=1,514); (B) Perfil de sinal com atomizador de liga Inconel600®, (Ab=1,553). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

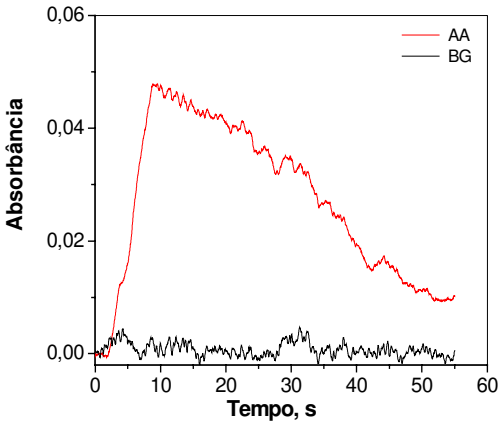


Figura 26: Perfil de sinal após a injeção de um padrão concentrado de Bi (40 mg L^{-1}) no atomizador de liga INCONEL600®, (Ab=1,529). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE BISMUTO

4.2.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS

As mesmas variáveis físicas estudadas no Capítulo 1, foram também estudadas aqui, de forma univariada, empregando-se um padrão de Bi 50 µg L^{-1}.

As condições iniciais das variáveis físicas do sistema foram: 1600 µL de volume injetado, 54,1 mL min^{-1} de gás de arraste, 2 mL min^{-1} de vazão de H_2O no nebulizador, 11,4 mL min^{-1} de vazão de solução carregadora, 30 cm de bobina de reação, proporção de 3-10 de acetileno-ar, capilar de 1,5 mm d.i., e atomizador de liga INCONEL600® com área total de furos de 43 mm^2.

4.2.1.1. Influência do volume injetado no sistema

A quantidade de volume injetado no sistema apresentou o mesmo perfil que o mostrado para o elemento As, ou seja, a absorbância é diretamente proporcional à quantidade de Bi injetada no sistema. Portanto, pode-se decidir a quantidade de volume injetado no sistema baseado nas mesmas justificativas apresentadas no item 4.3.1.1 do

Capítulo 1. Levando em consideração esses parâmetros, foi selecionado um volume de 1600 µL. Este estudo está ilustrado na figura 27.

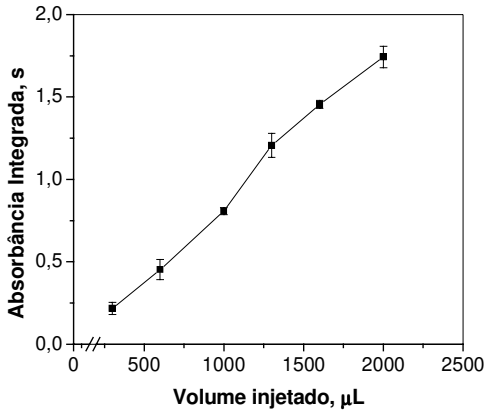


Figura 27: Influência do volume injetado. Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.2. Influência da vazão de carregador

Com relação à vazão de carregador, observou-se que com vazões muito elevadas, a partir de 10,2 mL min^{-1}, o que ocorria era uma diminuição do sinal analítico, *ca.* 7%. Isso pode ser explicado pelo fato de estar sendo necessário um tempo maior de contato entre a amostra e o redutor. Porém, mesmo assim, foi escolhida a vazão de carregador de 11,3 mL min^{-1} como condição de trabalho, levando-se em conta a freqüência analítica e o perfil do sinal. Este estudo está ilustrado na figura 28A, B e C.

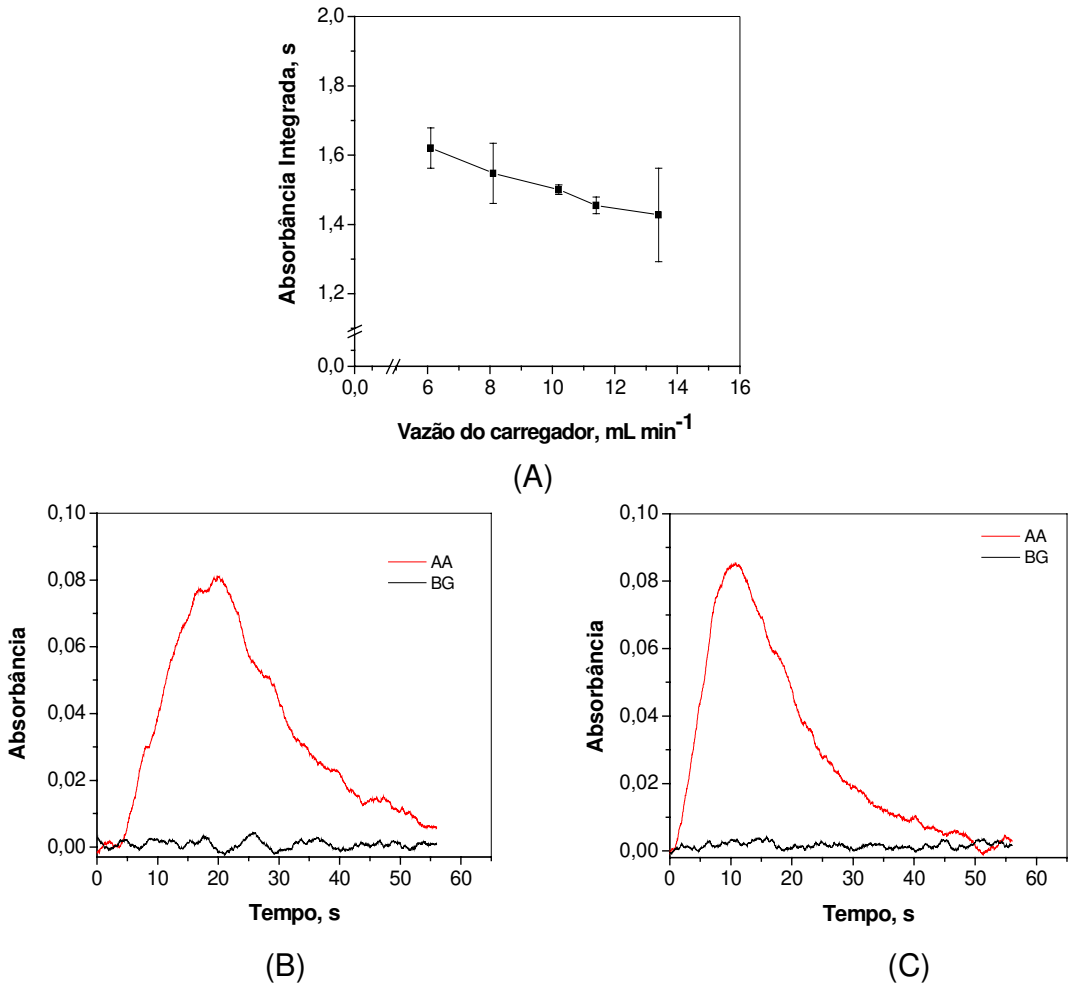


Figura 28: (A) Influência da vazão do carregador no sinal analítico; (B) Perfil de sinal com vazão de 6,1mL min^{-1}, (Ab=1,5695); (C) Perfil de sinal com vazão de 11,3 mL min^{-1}, (Ab=1,460). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.3. Influência da vazão de argônio

Visto que a bismutina é muito instável, necessitando de vazões mais altas para garantir que todo hidreto seja transportado de forma rápida até o caminho óptico a vazão de argônio de 150 mL min^{-1} para o transporte da bismutina até o atomizador INCONEL600® foi selecionada como vazão de trabalho [1]. Se comparada com a vazão do gás de arraste para a arsina, aquela foi *ca.* 3 vezes menor. Este efeito pode ser

verificado na figura 29A. Ainda, com vazões maiores de argônio observa-se uma grande melhora em termos de perfil de sinal analítico como pode ser visto na figura 29B e C.

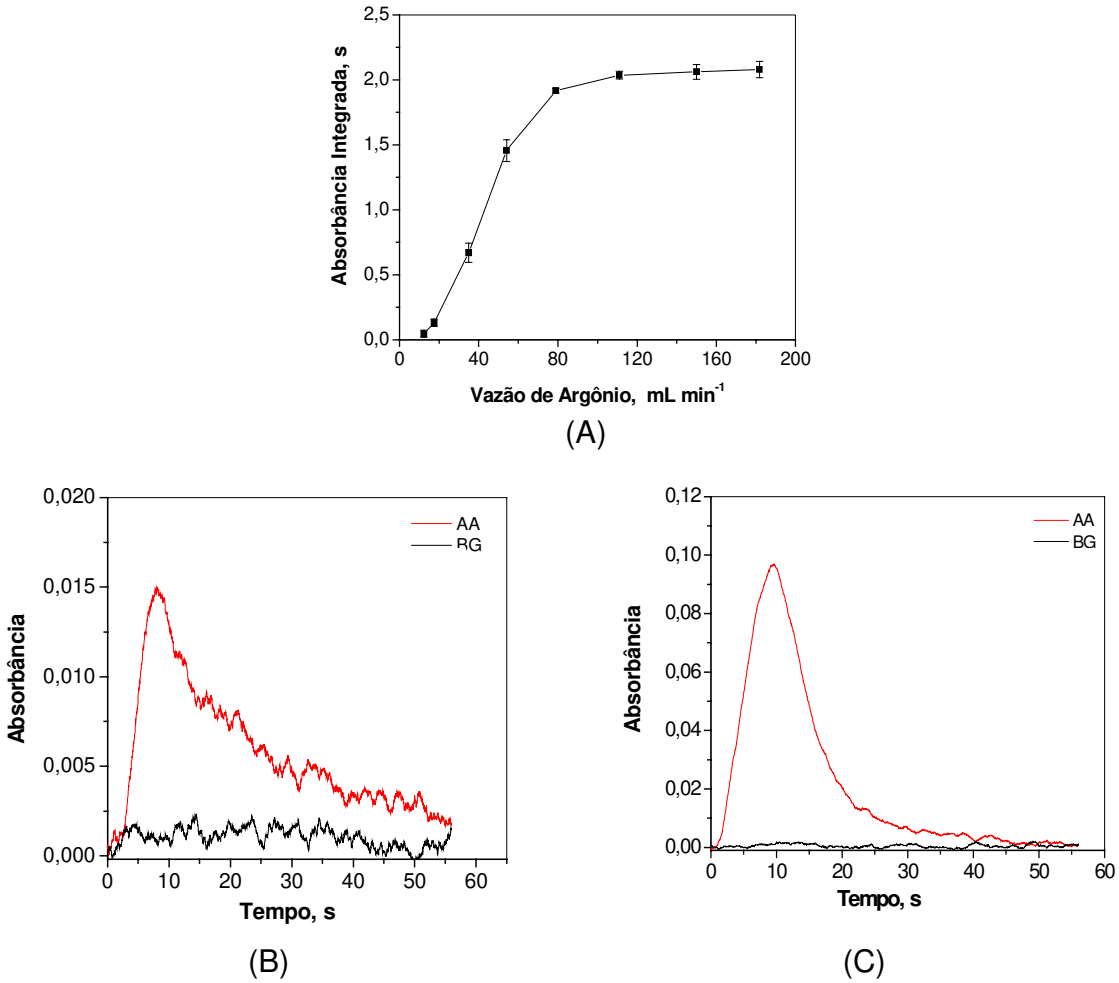


Figura 29: (A) Influência da vazão de gás de arraste Argônio; (B) Perfil de sinal para uma vazão de 35 mL min^{-1}, (Ab=0,530); (C) Perfil de sinal para uma vazão de 150 mL min^{-1}, (Ab=1,968). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.4. Influência do comprimento da bobina de reação

O comprimento da bobina de reação foi otimizado para a determinação de Bi. Entretanto, para a geração da bismutina, foi necessário um tempo maior de contato entre solução padrão, ácido e redutor, como pode ser verificado na figura 30. O sinal analítico aumentou *ca.*12% com a bobina de reação de 90 cm, se comparado com o

valor apresentado com uso de uma bobina de 30 cm. Isso pode ser justificado pela cinética de formação da bismutina, que é mais lenta se comparada com a formação de arsina [1]. Este resultado está de acordo com o apresentado anteriormente, e que se refere à solução carregadora.

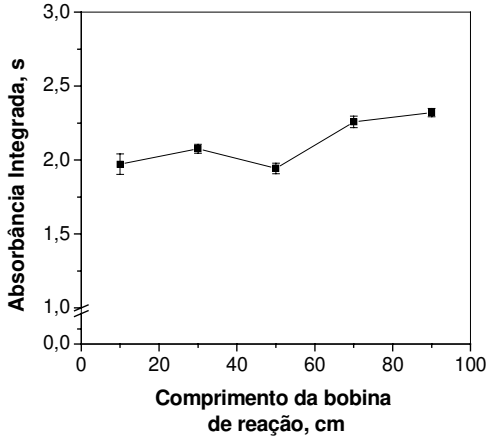


Figura 30: Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$, 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.5. Influência do diâmetro interno do capilar

A influência do diâmetro interno do capilar na determinação de Bi também foi estudada. O capilar de maior diâmetro interno (1,5 mm) foi o escolhido como condição de trabalho. Os resultados podem ser visualizados na figura 31.

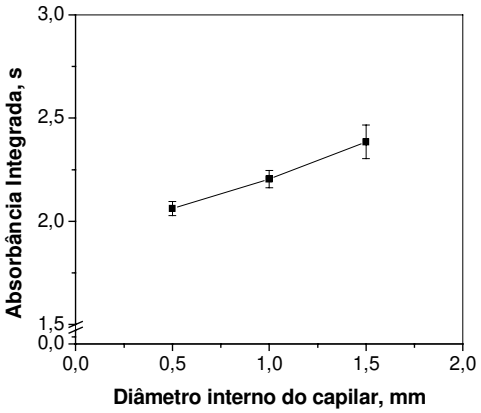


Figura 31: Influência do d.i. do capilar cerâmico. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$, 0,08% (m/v), NaOH, 0,1% (m/v).

4.2.1.6. Influência da vazão de nebulização de água desionizada

A vazão de água na câmara de nebulização do espectrômetro ficou otimizada em 3 mL min^{-1} para a determinação de Bi, levando em consideração não somente a sensibilidade, mas, também, o perfil de sinal (vide figura 32B e C). Por meio da figura 32, percebe-se que, apesar da vazão máxima (6 mL min^{-1}) ter apresentado maior sensibilidade, esta não foi escolhida devido a piora em termos de perfil de sinal, como pode ser verificado na figura 32C.

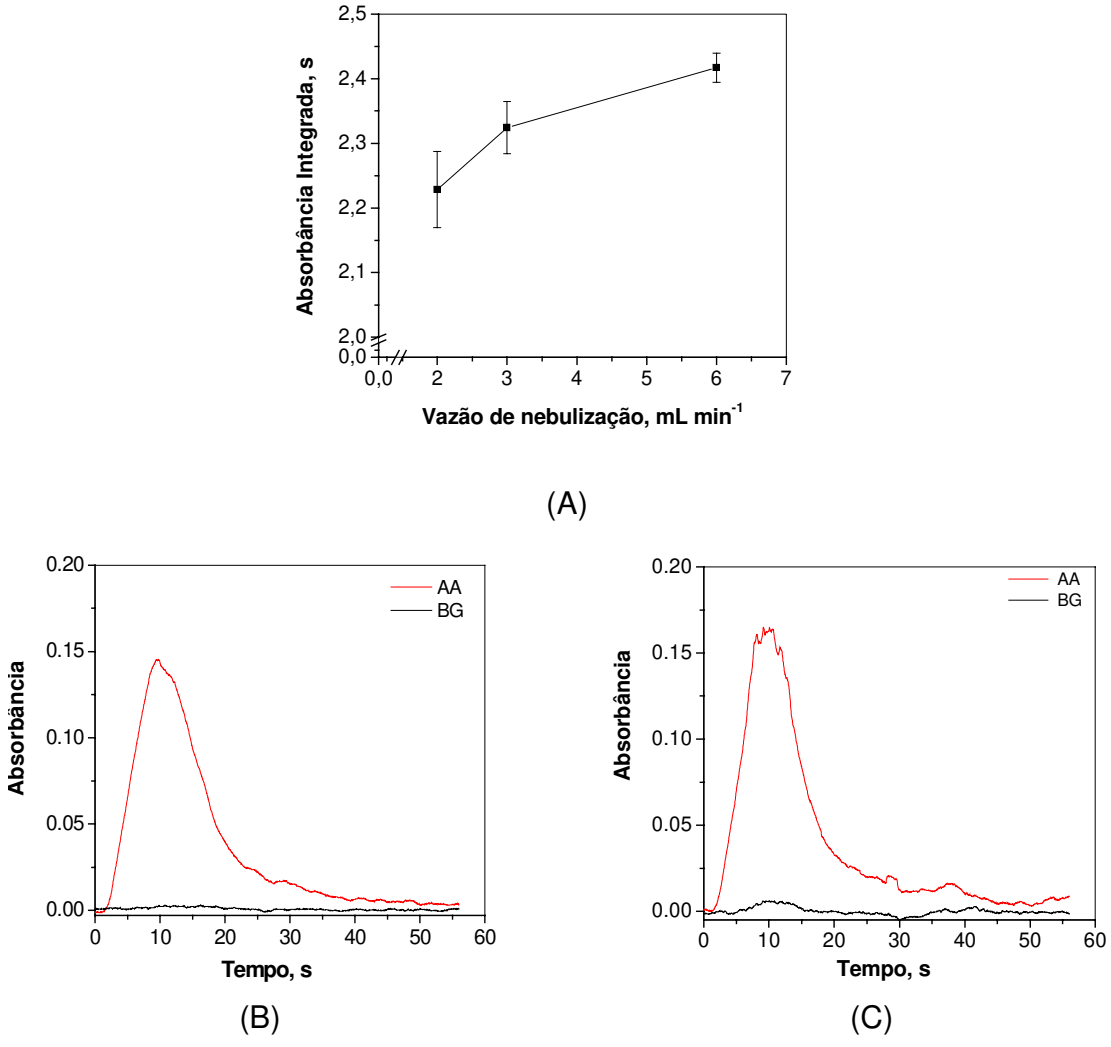


Figura 32: (A) Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização; (B) Perfil de sinal para uma vazão de 3 mL min^{-1}, (Ab=2,266); (C) Perfil de sinal para uma vazão de 6 mL min^{-1}, (Ab=2,395). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.7. Influência da proporção de ar-acetileno

A proporção de ar-acetileno também foi estudada. A figura 33 mostra o estudo da otimização da vazão de acetileno e ar, respectivamente, na determinação de Bi. Percebe-se que com uma vazão máxima de acetileno (4 L min^{-1}) e com uma vazão mínima de ar (8 L min^{-1}), há um aumento do sinal analítico, respectivamente de 30% em relação a vazão de 3 L min^{-1} de acetileno e de 10% em relação a vazão de 10 L min^{-1} de ar. Entretanto, essas condições não foram selecionadas como condição de trabalho devido à piora no perfil do sinal analítico, como ilustrado na figura 34(A – C). Portanto, a proporção de 10-3 de ar-acetileno foi selecionada como ótima. Isso sugere que o mecanismo de atomização da bismutina pode ser também via radicais de hidrogênio, como sugerido para a arsina. Vale ressaltar que na literatura apenas está relatado as possíveis rotas de atomização para os hidretos de arsênio e selênio.

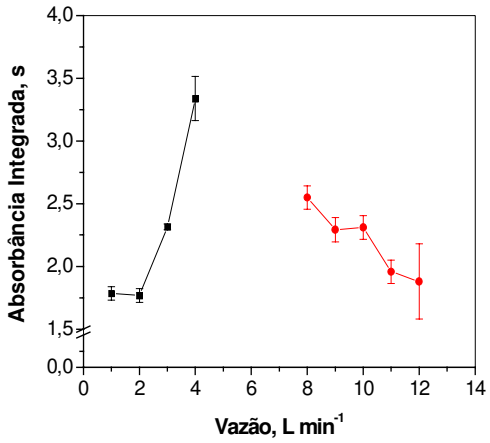


Figura 33: Influência da vazão de ar-acetileno. ▬■▬ Variação da vazão de acetileno (vazão de ar fixa em 10 L min^{-1}); ▬●▬ e variação da vazão de ar (vazão de acetileno fixa em 3 L min^{-1}) Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

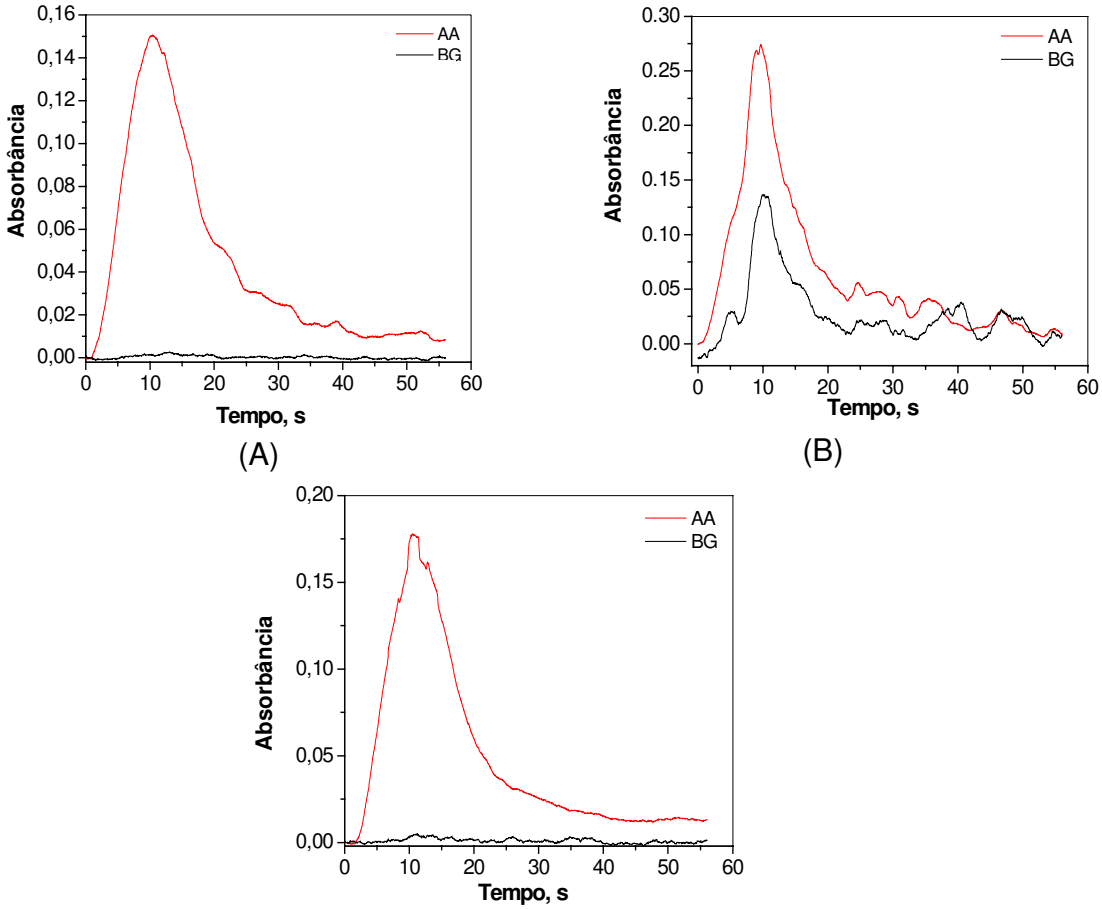


Figura 34: Perfis de sinal para diferentes proporções de acetileno-ar. (A) 3:10 L min^{-1}, (Ab=2,340); (B) 4:10 L min^{-1}, (Ab=3,450); (C) 3:8 L min^{-1}, (Ab=2,703). Condições empregadas: Solução de Bi 50 µg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.8. Influência da área total de furos do atomizador INCONEL600®.

A influência da área total de furos do atomizador no sinal analítico do Bi também foi verificada, e uma relação pode ser feita com a proporção de gases da chama do equipamento. Esse estudo está ilustrado na figura 35. Percebe-se que uma área total de furos de 19 mm^2 foi o suficiente para melhorar a resposta analítica em termos de absorbância integrada, ou seja, um aumento de 22% em relação à área total de furos de 43 mm^2. Isso sugere que o mecanismo de atomização da bismutina não necessita de uma grande quantidade de radicais de hidrogênio e oxigênio provenientes da chama,

como no caso da arsina, discutido no item 4.3.1.8 do Capítulo 1. O oxigênio provavelmente atrapalha a rota de atomização da bismutina, uma vez que seu excesso pode resultar na formação de óxido de bismuto, e, assim, deve ser evitado. Portanto, seu mecanismo deve ser favorecido principalmente pelos radicais de hidrogênio; que penetram pelos furos do atomizador, porém, em menor quantidade.

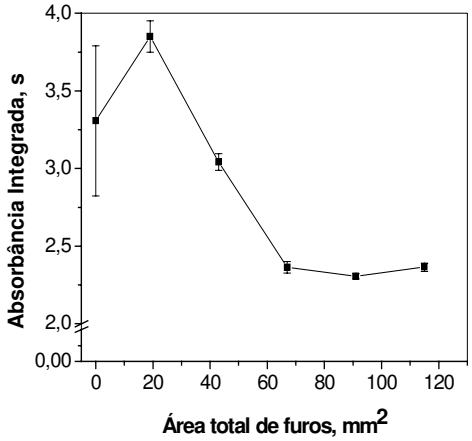


Figura 35: Influência da área total de furos do atomizador INCONEL600®. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, HCl 0,36 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.2. INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS PARA DETERMINAÇÃO DE BISMUTO

4.2.2.1. Influência da natureza de ácido

Neste caso também foi estudada a influência de diferentes ácidos na determinação de Bi, pelos mesmos motivos descritos no item 4.3.2.1. do Capitulo 1. O resultado está apresentado na tabela 11, e observa-se que na presença de HNO_3 e H_2SO_4 o sinal de 50 μg L^{-1} de Bi diminuiu *ca.* 48% e 62%, respectivamente.

Posteriormente, foi verificada a melhor concentração de HCl para a geração da bismutina. A figura 36 mostra que a partir de uma concentração de 0,3 mol L^{-1} de HCl o sinal analítico não se alterou, sendo esta a concentração selecionada como ótima.

Tabela 11: Influência da natureza dos ácidos na formação da bismutina. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1}, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v)

Tipo de ácido (0,3 mol L^{-1})	Absorbância Integrada	Recuperação de Bi (%)
HCl	3,80	100
HNO_3	1,98	52
H_2SO_4	1,46	38,4

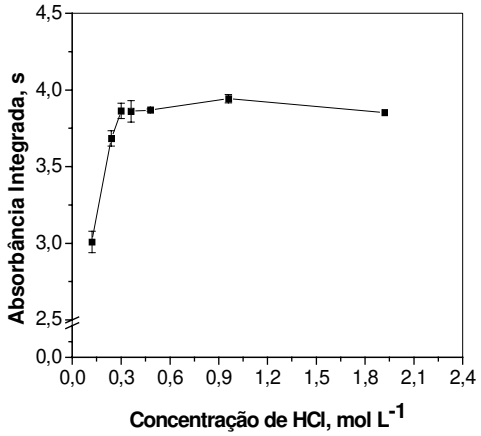


Figura 36: Influência da concentração de HCl. Condições empregadas: Solução 50 μg L^{-1} de Bi, $NaBH_4$ 0,08% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.2.2. Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio e de hidróxido de sódio

A figura 37A e B mostra o estudo feito com diferentes concentrações de $NaBH_4$ e NaOH. Por meio do mesmo, foi verificado que 1% (m/v) de $NaBH_4$ é a concentração que apresentou melhor resposta analítica, bem como 0,5% de NaOH. A explicação pode ser a mesma apresentada nos itens 4.3.2.2. e 4.3.2.3. do primeiro Capítulo.

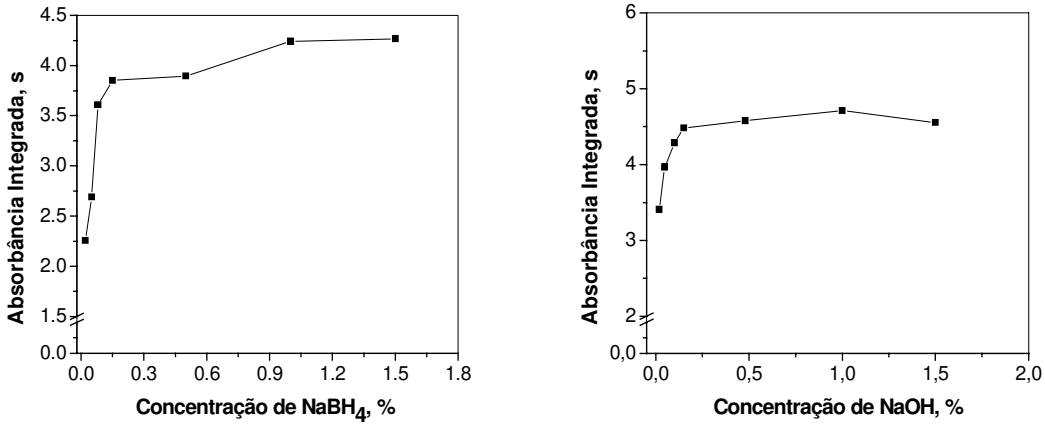


Figura 37: Influência da concentração de $NaBH_4$ e NaOH. Condições empregadas: Solução de Bi 50 μg L^{-1} de Bi, HCl 0,3 mol L^{-1}.

4.3. DESEMPENHO ANALÍTICO

Terminada todas as otimizações, uma curva analítica foi obtida (vide figura 38). As figuras de mérito do método estão presentes na tabela 12. Por meio desta pode-se perceber uma ampla faixa linear, bem como boa linearidade e sensibilidade do método. Para o cálculo da precisão, foram consideradas as réplicas das amostras empregadas no teste de exatidão, e o LD e LQ foram calculados, segundo a recomendação da IUPAC, da mesma forma descrita no item 4.4 do Capitulo 1.

Tabela 12: Parâmetros analíticos após a otimização do método

Equação da reta	A= 0,03353 + 0,08981C
Coeficiente de regressão (R^2)	0,9997
Limite de detecção (μg L^{-1})*	1,0
Limite de quantificação (μg L^{-1})**	3,4
Faixa linear(μg L^{-1})	3,4 - 200
#RSD (%)	< 2,7
Freqüência analítica (determinações h^{-1})	51

*LD e **LQ para 10 leituras de branco; # Precisão baseada na repetitividade, n=6; C: concentração de Bi.

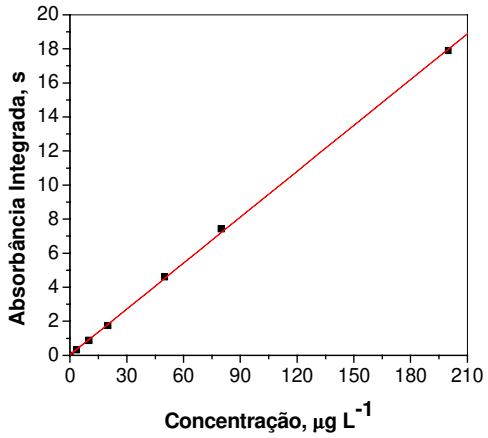


Figura 38: Curva analítica para Bi obtida nas condições otimizadas do método.

4.4. AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES

Segundo alguns autores [88, 1], vários elementos podem interferir na formação da bismutina, tanto na fase gasosa quanto na fase líquida. Baseado neste fato e nos possíveis elementos presentes na amostra, uma gama de elementos foi testada para a determinação de Bi. A faixa de concentração não foi escolhida baseada nas amostras, uma vez que no decorrer dos testes não era conhecida quais amostras seriam empregadas para o teste de exatidão do método. Os resultados estão presentes na tabela 13, e não foram considerados como interferentes os elementos que proporcionaram uma recuperação de Bi entre 90 e 110%. Como pode ser visto, a maioria dos elementos não apresenta interferência significativa para as concentrações estudadas, exceto a Ag, Cu, Fe e Ni. A interferência mais grave foi observada para Ni, o qual apresentou uma diminuição de 35% no sinal de Bi já na proporção de 1:1. O elemento Cu apresentou interferência a partir de uma proporção de 1:10, com uma redução do sinal de Bi de 38%. Vale ressaltar que tanto às presenças de Cu, Fe e de Ag, apresentaram efeito de memória a partir da proporção de 1:1. Após esta constatação, todo sistema foi submetido a sucessivas limpezas com ácido concentrado; no entanto, o problema persistiu. Ainda, após o estudo com a Ag como concomitante, pôde-se verificar a presença de um precipitado branco na parte inicial da bobina de reação, logo após o ponto de confluência.

Tabela 13: Carta de seletividade para a determinação de Bi 50 μg L^{-1}.

Concomitante	Proporção de Bi:concomitante	Recuperação % (n=3)
As	1:1	108 ± 1
	1:10	97 ± 1
	1:50	94 ± 1
Ag	1:1	88 ± 1
	1:10	27,2 ± 0,2
	1:50	-
Co	1:1	101 ± 1
	1:10	101 ± 4
	1:50	89 ± 1
Cu	1:1	96 ± 2
	1:10	62 ± 2
	1:50	22 ± 1
Fe	1:1	101 ± 2
	1:10	85± 2
	1:50	79 ± 10
Mn	1:1	93 ± 1
	1:10	95 ± 1
	1:50	92 ± 1
Mo	1:1	99,9 ± 0,1
	1:10	100 ± 1
	1:50	98 ± 1
Ni	1:1	65 ± 1
	1:10	27 ± 1
	1:50	9 ± 1
Pb	1:1	97 ± 1
	1:10	91 ± 1
	1:50	89 ± 2
Se	1:1	100 ± 1
	1:10	102 ± 3
	1:50	99 ± 1
Sb	1:1	102 ± 1
	1:10	102 ± 1
	1:50	102 ± 1
Sn	1:1	101 ± 1
	1:10	98 ± 1
	1:50	93 ± 2
V	1:1	103,0 ± 0,3
	1:10	103,0 ± 0,3
	1:50	102 ± 1
W	1:1	100 ± 2
	1:10	96,2 ± 0,4
	1:50	95 ±1
Zn	1:1	99 ± 1
	1:10	96 ± 1
	1:50	95 ± 1
Zr	1:1	97 ± 1
	1:10	94 ± 1
	1:50	89 ± 1

Possivelmente ocorreu a formação de cloreto de prata, pois como se sabe a sua formação é muito favorecida, como pode ser comprovado pelo valor do seu produto de solubilidade, ($Kps= 1,6.10^{-10}$) [76].

Por esse motivo, não foram avaliadas maiores concentrações de Ag. Essas interferências podem estar diretamente ligadas a atividades redox dos íons presentes. Eles são facilmente reduzidos na presença de um forte redutor, no caso $NaBH_4$ [84].

As interferências, principalmente de Fe e Ni, estão compatíveis com o relatado na literatura [88]. Uma explicação para isso é que a concentração de ácido clorídrico utilizada foi praticamente a mesma citada na literatura, uma vez que há uma tendência de elementos interferirem na geração de hidretos na presença de baixas concentrações de ácido [1].

Outros autores relatam que o comprimento da bobina de reação também pode favorecer as interferências na geração de hidretos. Aström [31] relatou que um excesso de Cu de 500 vezes em relação ao Bi, uma supressão do sinal de 0, 10 e 15% com o aumento, respectivamente, de 0, 5 e 10 cm do comprimento da bobina de reação, foi detectada. Com isso pode-se inferir que a cinética das reações envolvidas são diferentes. No entanto, em nossas investigações, mesmo usando bobina de reação de menor comprimento (passando de 90 para 30 cm), o problema como efeito de memória persistiu.

Com relação às interferências de outros elementos formadores de hidretos, pode-se dizer que são inexistentes nas concentrações estudadas, o que está de acordo com o trabalho de Hall *et al.* [39]. Os autores mostraram uma grande tolerância aos elementos formadores de hidretos, na determinação de Bi, com exceção de Se e Te. Estes apresentaram níveis de tolerância de 400 e 100 vezes, respectivamente. Chan e Hon [89] relatam a interferência de Se, o qual suprimiu o sinal de Bi quando 20 vezes em excesso. Este fato não está de acordo com o sistema aqui proposto, o qual apresentou uma recuperação de 99% de Bi, mesmo com um excesso de 50 vezes de Se. A diferença pode estar no fato de que no trabalho de Chan e Hon, o tempo de contato entre o redutor e a amostra foi maior, pois a vazão do carregador naquele caso foi de 4,3 mL min^{-1}, contra 11,3 mL min^{-1} utilizado neste trabalho. No trabalho de Yamamoto *et al.* [90], o Se interferiu no sinal de Bi quando a um excesso de 10 vezes,

mesmo a uma concentração de ácido clorídrico de 6 mol L^{-1}, ou seja, o ácido a alta concentração não é um mascarante para o Se, como foi no caso de Cu e Ni.

É de interesse ressaltar que após o estudo do interferente Fe, os limites de detecção e quantificação do método melhoraram em torno de 30% (tabela 14), bem como foi possível verificar que o sinal de absorbância integrada permaneceu constante após 216 injeções. Por meio de leituras de branco, foi verificada a inexistência de efeito de memória. Assim, o Fe pode ter alterado o ambiente do atomizador metálico, o que favoreceu fortemente a atomização da bismutina.

Após esta constatação, um pedaço do atomizador anteriormente empregado (43 mm^2 de área total), ou seja, aquele que foi usado antes do estudo do interferente Fe, foi submetido à técnica SEM acoplada a um detector de Raios-X, vide figura 39. Comparando com as análises de Raios-X realizadas com o atomizador empregado após o teste com o comcomitante Fe (os resultados obtidos com o atomizador usado após os testes com concomitantes estão ilustrados no item 4.6 deste Capítulo, figura 41), observou-se que a maior diferença entre os dois atomizadores é o teor de Ni. Isso evidencia que o Ni e o Fe presentes na liga, juntamente com o Fe injetado no sistema podem ter favorecido a formação de nanotubos, como discutido com mais detalhes no item 4.6 deste Capítulo. Segundo Rosolen e colaboradores [91], estes elementos são catalisadores para nanotubos de carbono. Esta evidência foi confirmada por meio do mapeamento elementar para ferro realizado por meio da técnica MET, ilustrada no item 4.6 deste Capítulo. Assim, pode-se inferir que com os nanotubos de carbono formados, o que se obteve foi um sistema de pré-concentração no tubo atomizador, uma vez que, os nanotubos de carbono são empregados como material pré-concentrador na química analítica [92].

Tabela 14: Limites de detecção e quantificação do método antes e depois do teste com o Fe como interferente.

	Antes do teste com Fe	Após o teste com Fe
Limite de detecção (μg L^{-1})	1,0	0,7
Limite de quantificação (μg L^{-1})	3,4	2,3

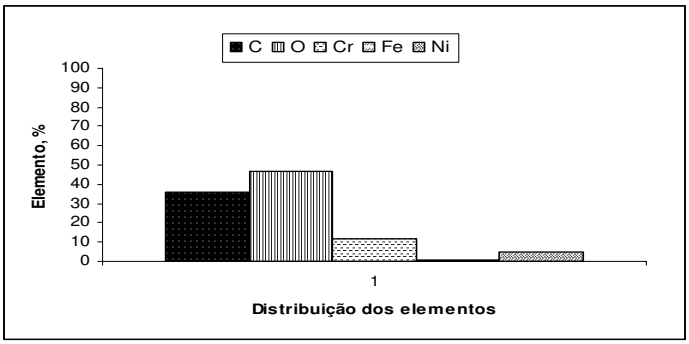


Figura 39: Composição da superfície do atomizador empregado antes do estudo com concomitantes.

4.4.1. AVALIAÇÃO DOS MASCARANTES

A literatura apresenta diversas formas de mascarar os elementos que possam interferir na determinação e/ou formação de elementos geradores de hidretos como o Bi. O Fe(III), na presença da ácido clorídrico e nítrico a uma proporção de 2:1, foi usado com sucesso para mascarar elementos como Cu e Ni na determinação de Bi [88]. Neste sentido, o mesmo procedimento foi testado para o sistema proposto, bem como uma mistura de iodeto de potássio e tiuréia. Os resultados estão apresentados na tabela 15, e por meio dos mesmos, pode-se perceber que o Fe(III) apresentou uma melhora (aumento de 32%) na recuperação de Bi na presença de Ni. Porém, houve uma piora na recuperação do sinal de Bi na presença de Cu, se comparado com a ausência de Fe(III), ou seja, uma diminuição de 14%. A capacidade do Fe(III) se reduzir pode ser uma explicação plausível para o seu uso como mascarante, isto é, esta redução é cineticamente mais favorável que a redução de Cu(II) [84, 93]. Por outro lado, com a mistura de KI e tiuréia, a recuperação de Bi, na presença de Cu e de Ag, passou de 62% para 71%, e 88% para 106%, respectivamente. No entanto, a recuperação de Bi não foi satisfatória na presença de todos os interferentes (Ni, Cu e Ag), tanto com o mascarante KI e tiuréia quanto com o Fe(III).

Vale também ressaltar que um aumento na concentração de ácido ou diminuição na concentração do redutor, pode suprimir a interferência de Ni e Cu sobre os elementos formadores de hidretos, como sugerido por Dědina e Tsalev [1].

Devido a literatura relatar que o ferro presente nas amostras pode mascarar o efeito desses interferentes, não foram testados outros tipos de mascarantes [1]. Isso pode ser verificado no teste de exatidão do método.

Tabela 15: Estudo de alguns mascarantes para os interferentes Ni, Cu e Ag .

	Proporção interferente:analito	**Recuperação de Bi sem mascarante (%)**	**Recuperação de Bi com mascarante (%)**
M(*) + Ni + Bi	1:1	65 ±1	80 ± 1
M + Cu + Bi	10:1	62 ±2	71 ± 7
M + Ag + Bi	1:1	88 ± 1	106 ± 2
M + Ag + Cu + Bi	1:10:1	-	65 ± 6
**FeIII + Ni +Bi	10:1:1	65 ±1	97 ± 1
** FeIII + Cu + Bi	10:10:1	62 ±2	48 ± 6
**FeIII + Cu + Ni + Bi	10:10:1:1	-	67 ±10
***FeIII + Cu + Bi	2400:10:1	62 ± 2	0

(*) M=(KI 10% (m/v)+ tiuréia 1% (m/v)), referência [73]; ** referência [88]; ***referência [93]

4.5. TESTE DE EXATIDÃO

Para o teste de exatidão do método foram selecionadas, primeiramente, amostras de antiácidos, bisuisan e peptosil, (amostras livres de interferência, segundo o rótulo). As concentrações encontradas de Bi para o método proposto, foram comparadas com as concentrações encontradas por meio das técnicas de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e chama, respectivamente. Posteriormente, também foram avaliados materiais de referência de ligas de aço, os quais apresentam interferentes, tais como Ni e Cu, mas por outro lado, há uma alta concentração de Fe de *ca.* 90%.

O teste de exatidão foi realizado por meio das variáveis otimizadas, somente para as amostras livres de interferência. No entanto, com as amostras de liga de aço, foi necessária a alteração de algumas variáveis, tais como: concentração de ácido

empregada, passou de 0,3 mol L^{-1} para 1,0 mol L^{-1}; a concentração de redutor, passou de 1,0% (m/v) para 0,8% (m/v) e o comprimento da bobina de reação, passou de 90 cm para 30 cm. Como mencionado anteriormente, essas variáveis podem favorecer a interferência dos metais de transição que possam estar presentes nas amostras. Vale ressaltar que mesmo aumentando a concentração de ácido e diminuindo o comprimento da bobina de reação, um precipitado preto se formou na bobina de reação, o que provavelmente é devido a redução de Cu(II) para Cu(0).

Os resultados podem ser visualizados na tabela 16. Os valores em mg g^{-1} para as amostras de antiácido foram compatíveis entre si e apresentaram um limite de 95% de confiança, segundo os testes *t e F*. As concentrações obtidas de Bi nas amostras de liga de aço foram compatíveis com os valores de referência. Portanto, realmente o Fe presente na liga pode ter apresentado um efeito mascarante para os interferentes presentes nas amostras de liga de aço. Isso ocorre devido ao elevado potencial de redução do Fe em relação ao potencial de redução dos demais interferentes presentes no meio.

Tabela 16: Resultados da quantificação de Bi nas diferentes amostras a partir do método proposto, (n=3).

Amostra	Valor de Referência	Valor Obtido	Valor obtido (ET AAS)	Valor obtido (F AAS)
*Carbonato básico de Bi (mg g^{-1})	-	$29,9 \pm 0,3$	28 ± 2	-
*Subsalicilato de Bi (mg g^{-1})	-	152 ± 7	-	144 ± 2
**SRM 361 (%, m/m)	0,0004	$(37 \pm 1).10^{-5}$	-	-
SRM 363 (%, m/m)	0,0008	$(6 \pm 1,4).10^{-5}$	-	-
SRM 364 (%, m/m)	0,0009	$(13 \pm 7).10^{-5}$	-	-

*$x \pm t.\sigma/(n)^{1/2}$, n = nº de abertura de amostras; ** $x \pm$ SD, N=6, amostras de liga de aço.

4.6. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

Da mesma forma como descrito no item 4.7 do Capítulo 1, foram obtidas micrografias com o atomizador INCONEL600® (19 mm^2 de área total de furos), após o término do trabalho (*ca.* 2000 determinações). As micrografias obtidas em diferentes partes do atomizador, como descrito no item 3.9 da parte experimental do Capítulo 1, estão apresentadas na figura 40, todas com um aumento de 100x.

Comparando as micrografias da figura 40(A-D) com a 40E pode-se perceber que a liga do atomizador, após o uso, apresenta grande alteração, como o aparecimento de partes desgastadas, manchas esbranquiçadas, bem como aumento do relevo da superfície interna. Também, foram realizadas determinações semi-quantitativas da composição dos metais presentes na superfície interna do atomizador, por meio de um detector de Raios-X.

A figura 41(A – C) apresenta a alteração de composição da liga usada para 5 elementos presentes, tais como: Ni, C, O, Cr e Fe. Este atomizador também apresentou uma grande alteração da composição da liga, porém, a diferença é que, neste caso, possivelmente o Ni presente na liga foi utilizado como catalisador de nanotubos, como mostrado nas figuras 42, 43 e 44. É interessante destacar que nas partes do tubo onde não se formaram nanotubos de carbono, o teor de O e de Cr foram maiores. Logo, a possível formação, neste caso de óxido de cromo é o suficiente para um ambiente favorável para a atomização da bismutina.

Romero *et al.* [91], sintetizaram nanotubos de carbono por meio do catalisador $Zr(Fe_{0.5}Ni_{0.5})_2$. A figura apresentada por estes autores, como sendo nanotubos, se assemelha grandemente com a obtida neste trabalho, evidenciando que estes tubos presentes na superfície interna do atomizador podem ser nanotubos de carbono.

A confirmação para essa evidência, pôde ser obtida por meio do emprego de um microscópio eletrônico de transmissão. Estes resultados podem ser vistos na figura 45, a qual mostra que o tubo apresenta as partes internas das extremidades preenchidas.

Por meio do mapeamento elementar, ilustrado na figura 46, podemos confirmar que o tubo formado é de carbono, e que um dos constituintes da parte interna das extremidades do nanotubo é Fe, como indicado pelas setas. É importante destacar que

não foi possível confirmar a participação do Bi na síntese de nanotubos, uma vez que a energia necessária para ionizar os elétrons do Bi é superior à capacidade do equipamento.

Também foi realizado um mapeamento de algumas regiões internas do atomizador (vide figura 47). Este mostra a não uniformidade da composição da liga após o uso para a determinação de Bi, e que a formação dos nanotubos não ocorre em todas as regiões, mas nos aglomerados, possivelmente onde a concentração de Ni é maior.

Por meio desses resultados, pode-se inferir que, com o emprego do atomizador de liga INCONEL600®, o Ni presente na liga provavelmente não reage com o Bi como o apresentado para a determinação de As, mas sim com o Fe, apresentando a função de catalisador de nanotubos.

Vale ressaltar que houve uma formação de fuligem preta no decorrer do trabalho; portanto, nesta fuligem foram realizadas micrografias, juntamente com a detecção de possíveis elementos químicos na mesma (vide figura 48). Pode ser observado que não houve a formação de nanotubos de carbono nessas fuligens, e que a composição da mesma é *ca*. 100% de carbono, como mostrado na figura 48G. Mais um indício de que é necessário que o Ni esteja presente, e em contato com a superfície da liga, para a formação dos nanotubos.

A figura 48C demonstra uma semelhança com a micrografia obtida para a superfície de um atomizador eletrotérmico (forno de grafite), como relatado na literatura [61]. O elevado teor de carbono sugere a formação de um ambiente extremamente redutor.

Com os resultados aqui apresentados, pode-se dizer que provavelmente o Bi pode ter favorecido a formação dos nanotubos, uma vez que isso não foi verificado nos atomizadores empregados para a determinação de As (Capítulo 1) e de Se, que está descrito no próximo Capítulo desta Dissertação.

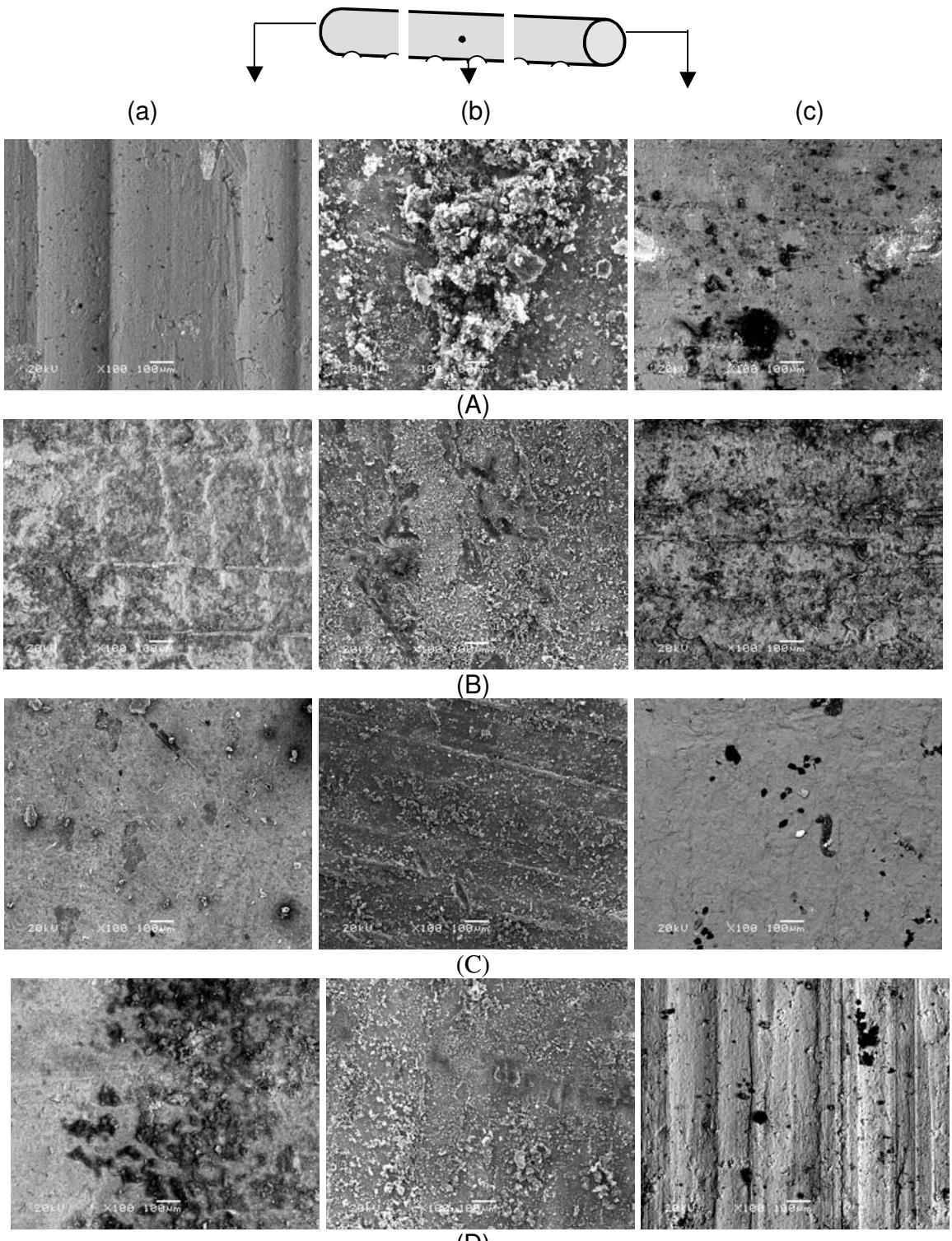
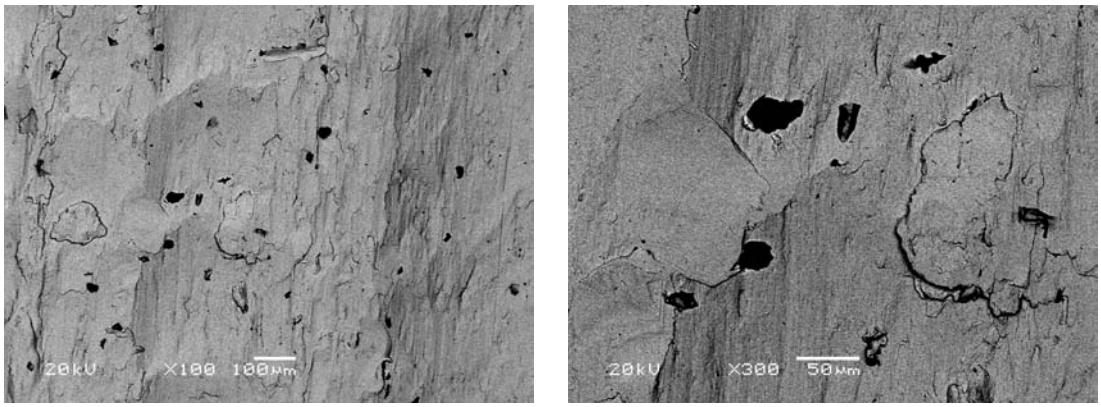
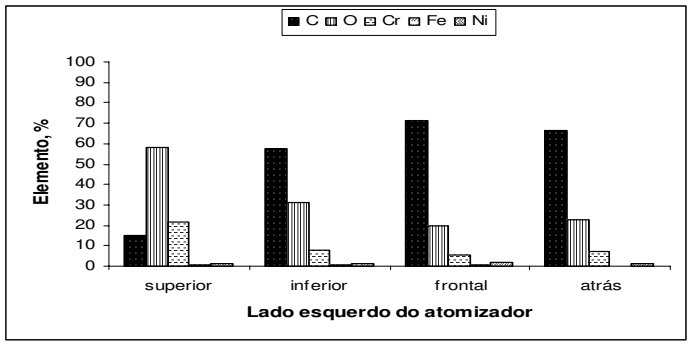


Figura 40: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador.

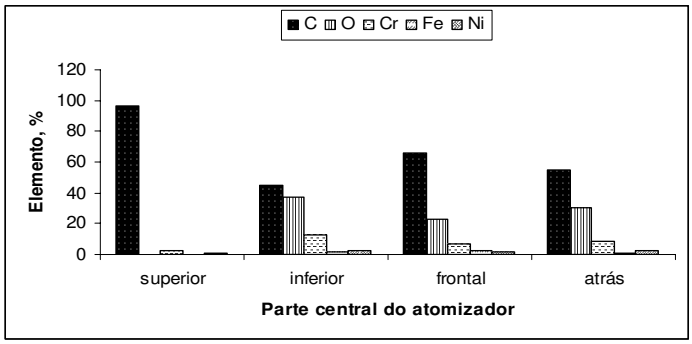


(E)

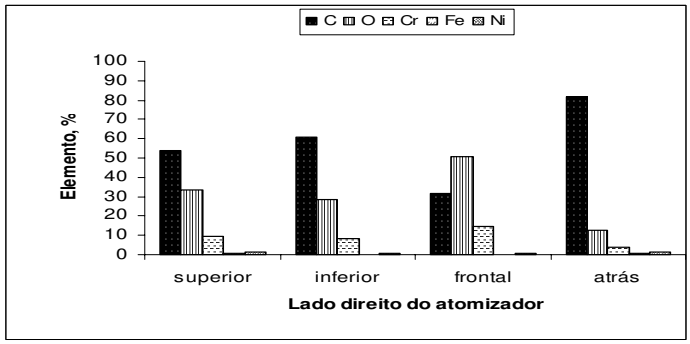
Figura 40 (continuação): (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x.



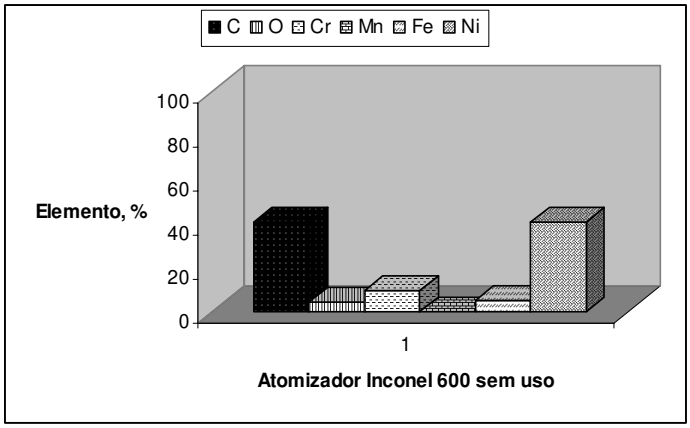
(A)



(B)

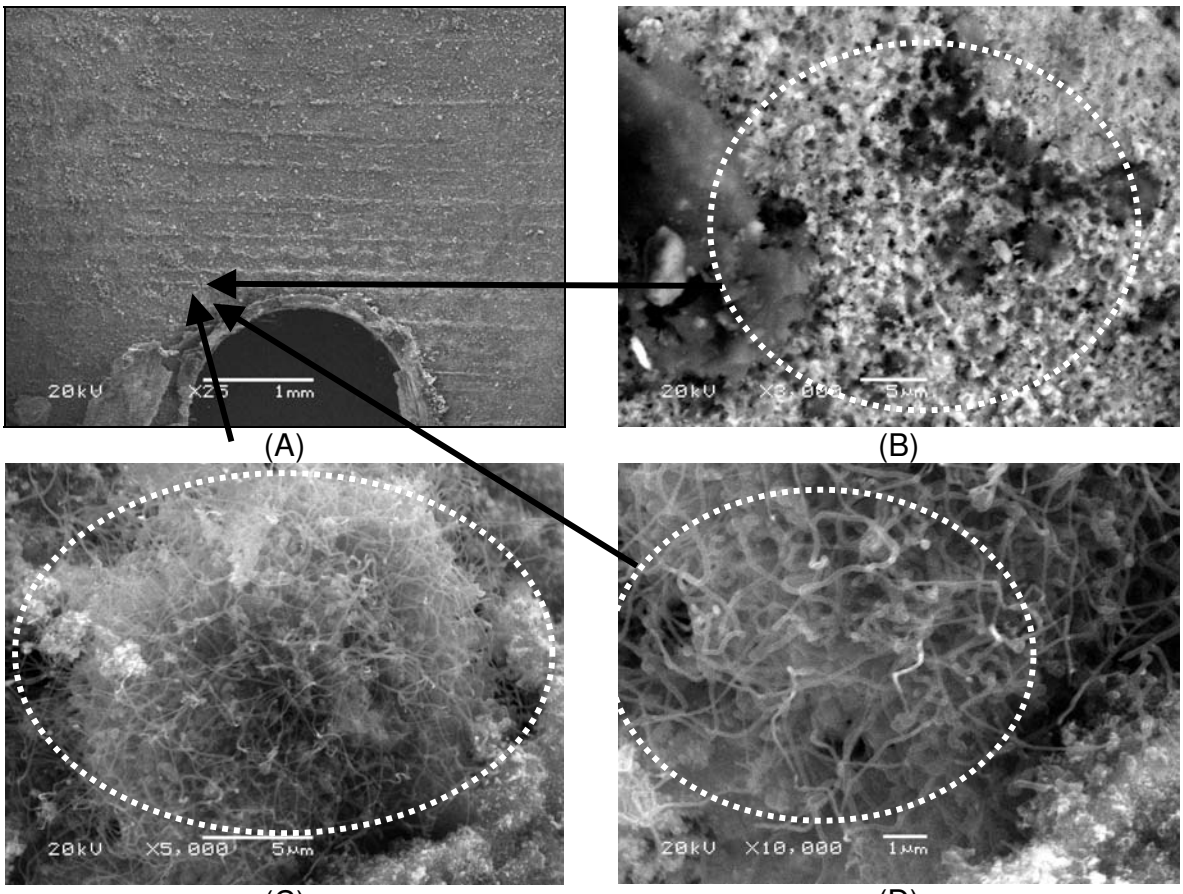


(C)



(D)

Figura 41: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições. (A - C) e antes do uso (D).



(A) (B)

(C) (D)

Figura 42: Região do atomizador (lado direito inferior) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 25x; (B) aumento de 3000x; (C) 5000x; (D) aumento de 10000x.

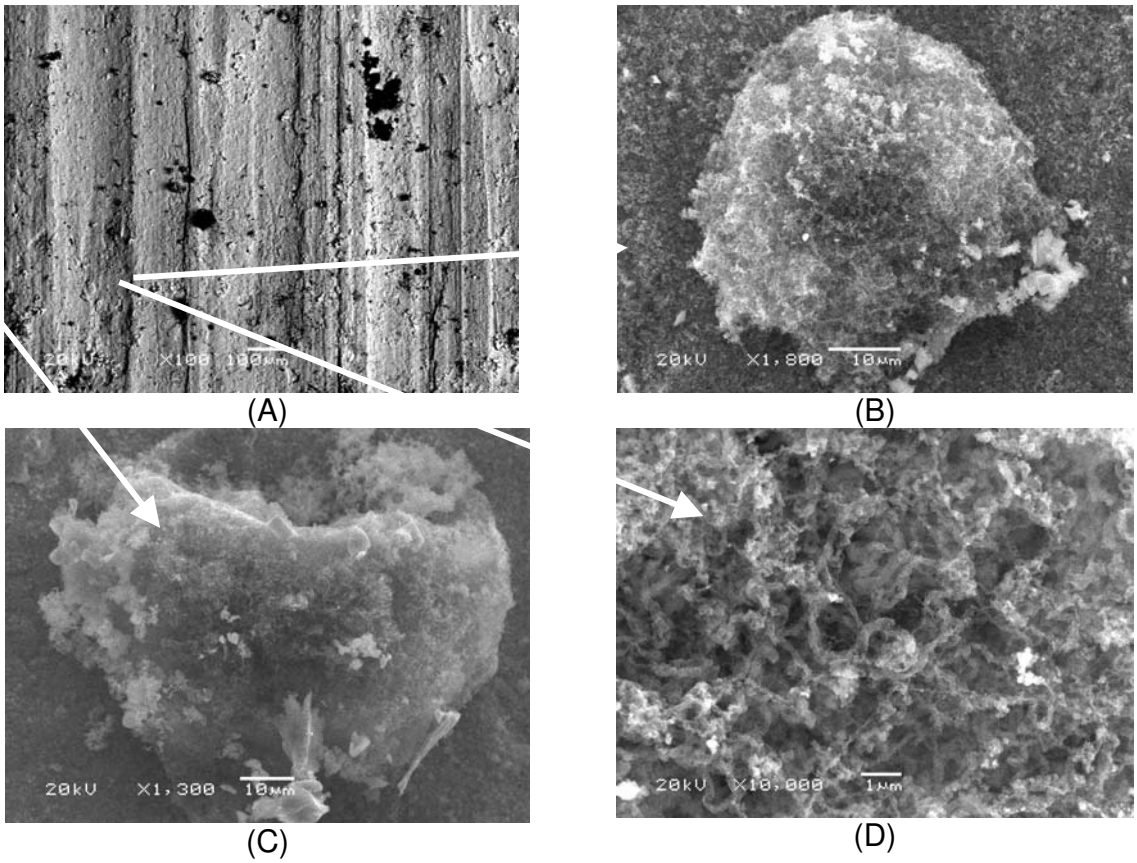
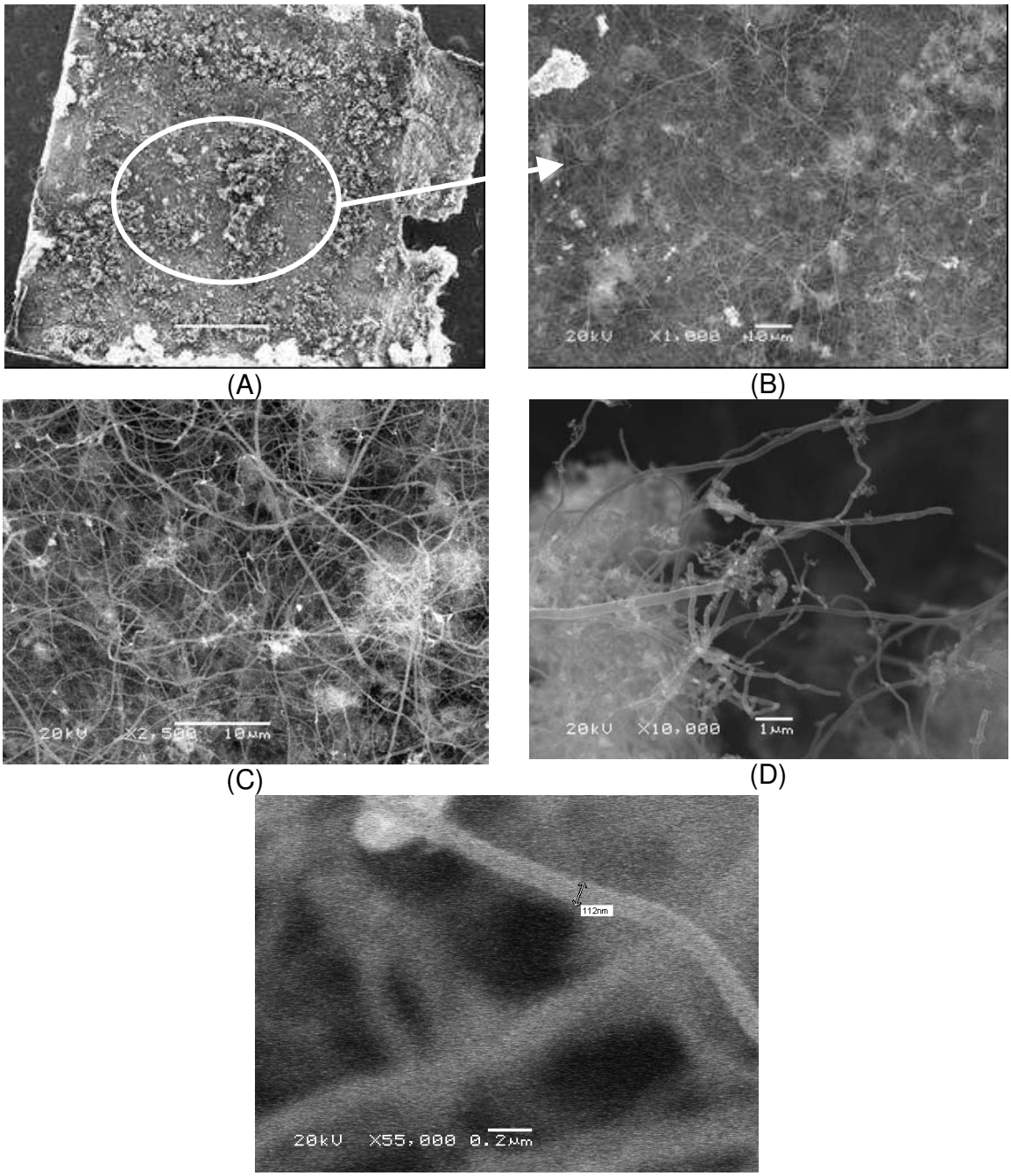
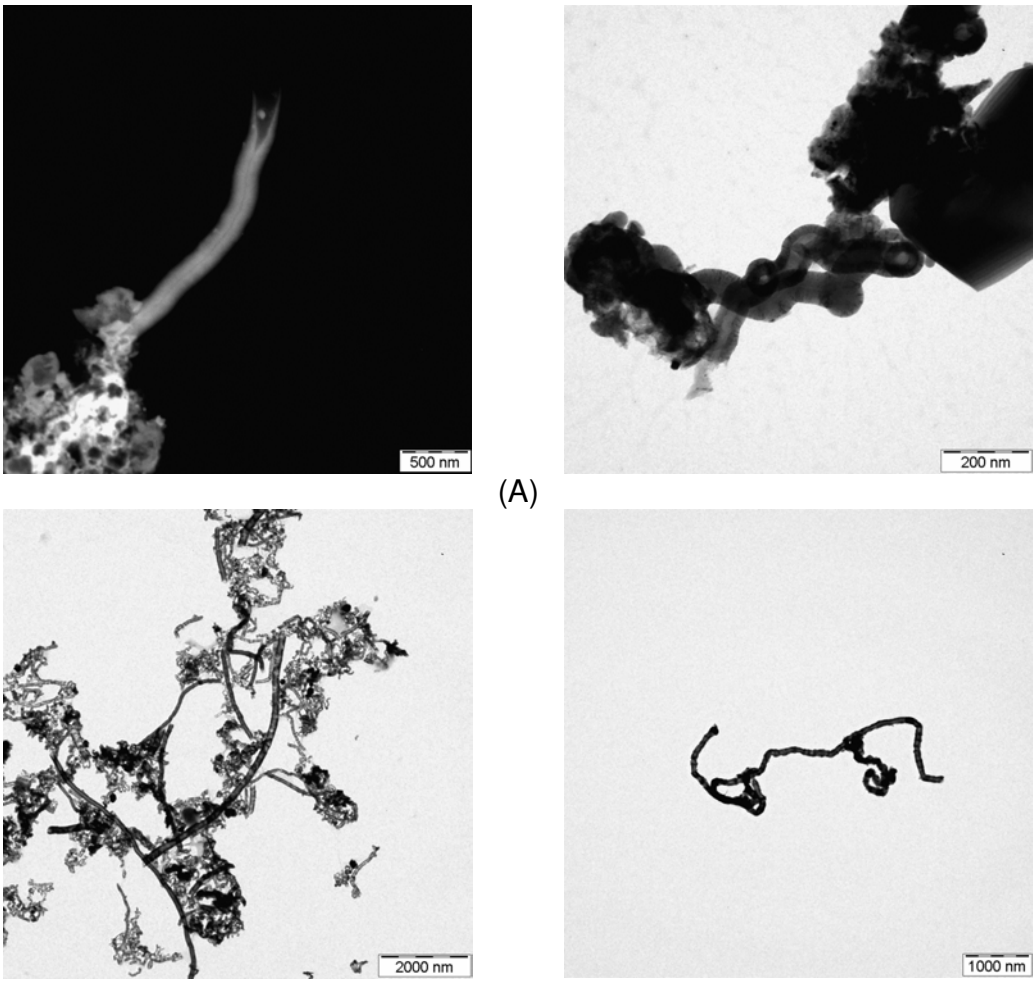


Figura 43: Região do atomizador (lado direito frontal) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 100x; (B) aumento de 1800x; (C) 1300x; (D) aumento de 10000x.



(A) (B) (C) (D) (E)

Figura 44: Região do atomizador (parte central superior) que apresentou nanotubos. (A) aumento de 25x; (B) aumento de 1000x; (C) aumento de 2500x; (D) aumento de 10000x, (E) aumento de 55000x.



(A)

(B)

Figura 45: Microscopia de nanotubos de carbono obtida por meio da técnica MET. (A) Parte inferior do lado direito do atomizador, (B) Parte central superior do atomizador.

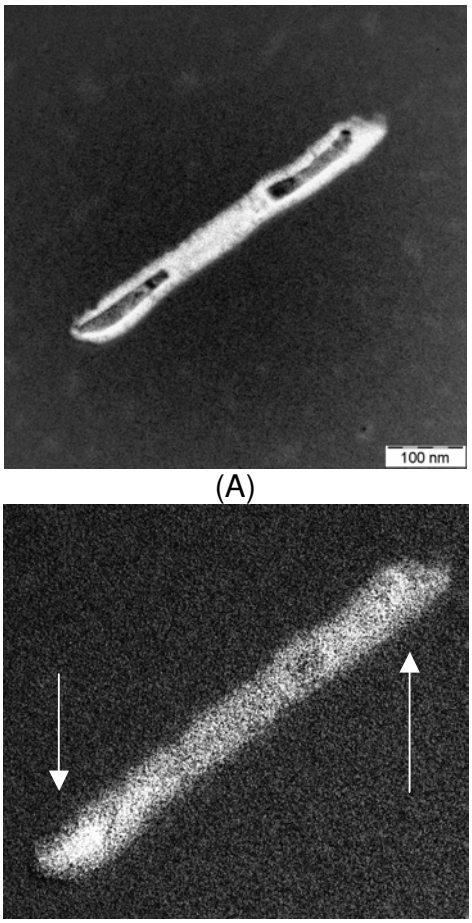
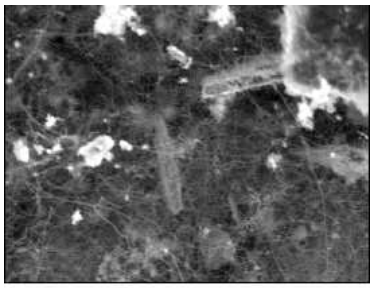
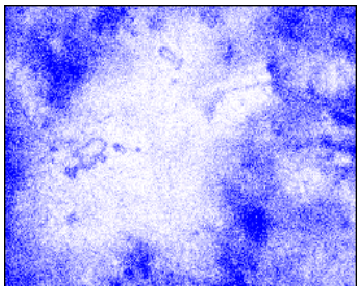


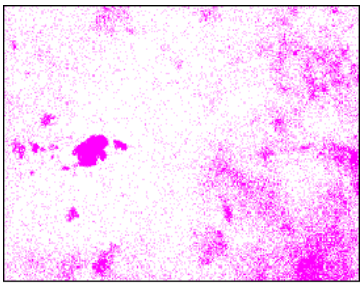
Figura 46: Mapeamento elementar por meio da técnica MET, parte inferior do lado direito do atomizador, (A) do carbono (as partes claras são onde há a maior concentração de carbono), (B) do ferro (as setas indicam a concentração de ferro dentro do nanotubo de carbono).



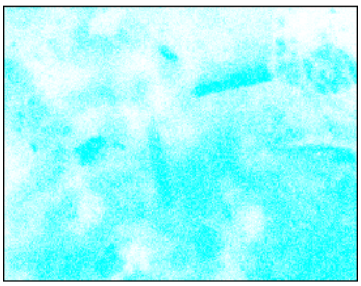
Todos os elementos em escala de cinza



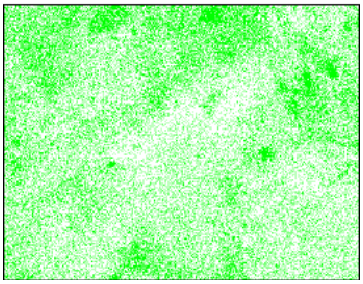
Carbono



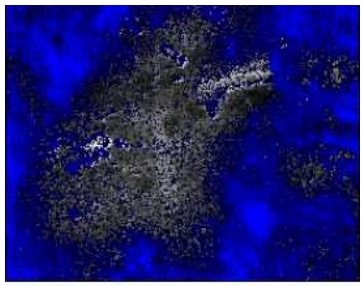
Oxigênio



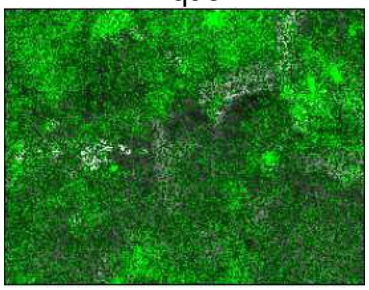
Cromo



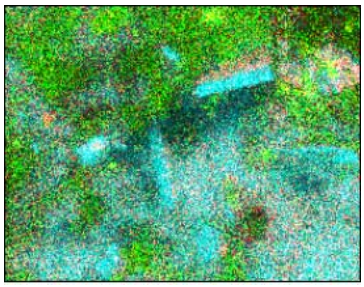
Níquel



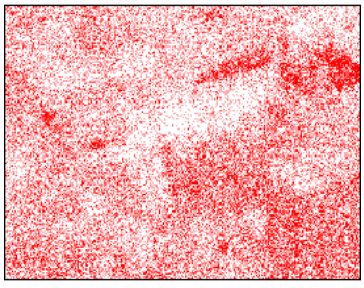
Carbono + escala de cinza



Níquel + escala de cinza



Cromo, Ferro e níquel



Ferro

Figura 47: (A) Distribuição dos elementos químicos na superfície interna da parte central superior do atomizador. Aumento de 1000x.

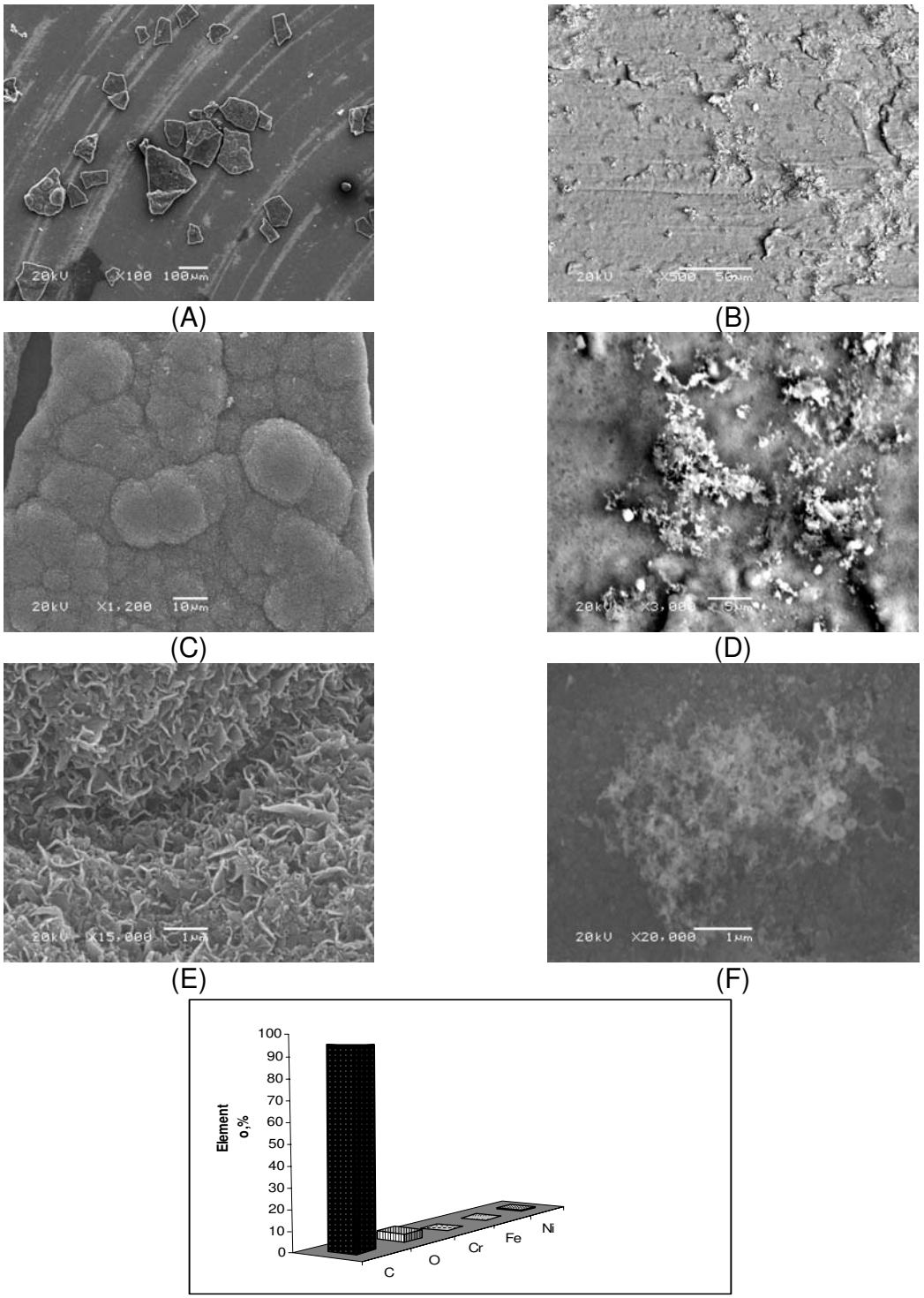


Figura 48: Micrografias da fuligem formada no atomizador a diferentes aumentos: (A) 100x; (B) 500x; (C) 1200x; (D) 3000x; (E) 15000x e (F) 20000x (G) Elementos identificados pelo detector de Raios-X na fuligem formada no atomizador.

5. CONCLUSÃO PARCIAL

Neste capítulo foram avaliadas todas as variáveis físicas e químicas do sistema empregado para a determinação de Bi, bem como estudo com concomitantes e teste de exatidão do método.

A técnica apresentou-se adequada para a quantificação de Bi em baixas concentrações, uma vez que o limite de quantificação obtido foi de 2,3 $\mu g\ L^{-1}$ e uma ampla faixa linear, variando de 2,3 – 200 $\mu g\ L^{-1}$.

No tocante aos testes de interferência, foi possível verificar que as interferências de Cu, Ni e Fe foram verificadas mesmo quando estes estavam presentes em baixas concentrações; entretanto, os mesmos não apresentaram interferências nas amostras analisadas como mostrado pelo teste de exatidão do método.

O teste de exatidão realizado para o método em questão apresentou um intervalo de confiança de 95% segundo o teste *t* para as amostras estudadas.

Portanto, o atomizador de liga INCONEL600® pode ser empregado com eficácia para a determinação de Bi por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos.

Com relação às micrografias, verificou-se que a superfície interna se alterou de forma aleatória no interior do atomizador. Foi verificada a formação de nanotubos de carbono, a qual foi favorecida provavelmente pela presença de Ni e Fe na liga, bem como do Bi injetado no sistema. Esta constatação foi feita baseada nas imagens fornecidas pelas micrografias, bem como na alteração da composição da liga. Porém, também se formou possivelmente uma camada de óxido de cromo na superfície do atomizador, como apresentado no Capítulo 1.

Estes resultados mostram que mais estudos são necessários para confirmação dessas hipóteses.

Capítulo 3

Tubo metálico como atomizador na técnica HG-AAS: determinação de Selênio

1. OBJETIVO

Este capítulo visa o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação de Se total empregando um tubo de liga metálica como atomizador na técnica de HG-AAS. Primeiramente, foram avaliadas as variáveis físicas e, posteriormente, as variáveis químicas envolvidas no sistema proposto. Após as otimizações, foram obtidos os parâmetros analíticos, um estudo com concomitantes, bem como teste de exatidão do método com materiais de referência certificados.

Ao final do trabalho, diferentes partes do atomizador metálico foram analisadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura com um detector de Raios-X.

2. INTRODUÇÃO

O Se é um elemento que apresenta duplo comportamento, ou seja, pode ser essencial à vida ou ser tóxico, dependendo da sua concentração [94].

A estreita faixa entre deficiência e toxicidade tem sido reconhecida por muitos autores [94, 95]. Como exemplo, a enzima glutationa-peroxidase contém Se, e esta é necessária ao metabolismo e excreção de H_2O_2 e lipídioperoxidase, em células. Segundo a FNB (US) foi estabelecida uma dieta de acordo com o Se requerido para um adulto, que foi calculada a partir da dieta recomendada permitida (RDA). Os RDAs para Se são 15 – 20 μg dia^{-1} para bebês, 20 – 30 μg dia^{-1} para crianças, 40 – 55 μg dia^{-1} para adultos, 60 μg dia^{-1} para mulheres grávidas e de 70 μg dia^{-1} para mães lactantes [95]. No entanto, um limite de ingestão de Se de, no máximo, 400 μg dia^{-1} foi selecionado como seguro. Para água, a dose máxima é de 10 μg L^{-1} [96].

Quanto à sua toxicidade, na forma elementar ele é biologicamente inerte; no entanto, ela é mais observada em espécies inorgânicas de Se, podendo causar degeneração da vida da célula e necrose das células do fígado [97]. Porém, por outro lado, uma dieta com compostos orgânicos de Se, apresenta atividade anticarcinogênica e previne a necrose do fígado de ratos, como relatado por Jia *et al.* [97] e Yang *et al.* [98].

O Se é muito utilizado em manufaturas de semicondutores, células fotoelétricas, plásticos, materiais ópticos de infravermelho, vidros, lubrificantes e cerâmicas [99].

Em se tratando da sua biodisponibilidade, podemos dizer que ele está presente em todos os compartimentos ambientais e em concentrações que variam de 0,1 μg kg^{-1} até 8000 mg kg^{-1} [99]. Altas concentrações de Se, tem sido encontradas em águas e solos, devido às atividades antropogênicas, tais como: atividades agrícolas, resíduos de minas entre outras. Neste último, é devido, principalmente, ao uso de fertilizantes. Porém, outras fontes de Se incluem, as combustões de carvão e de petróleo [99].

Com isso, devido à sua capacidade de bioacomulação é de grande importância quantificar o teor deste elemento em diferentes matrizes, tais como, solo, sedimento e carvão. O Se também pode ser encontrado em quantidades relevantes em amostras

como as de peixes, comida marinha (algas, por exemplo) ou até mesmo em cabelo humano. Este elemento pode estar presente nessas amostras na forma inorgânica, orgânica, como as selenocistina, trimetilselênio ou, até mesmo, as selenobetaínas, as quais são de difícil mineralização.

Para a determinação de Se por geração de hidretos, é de extrema importância que o mesmo esteja de forma livre na solução para que o respectivo hidreto seja formado. No entanto, o Se pode estar fortemente associado a proteínas e lipídios. Amostras de urina, por exemplo, podem apresentar esse tipo de espécies. Portanto, para a mineralização dessas espécies é necessário o uso de ácidos extremamente oxidantes. Welz *et al.* [100] mostraram a completa decomposição de amostras de urina, sangue e plasma sanguíneo, com aquecimento de 310ºC com uma mistura de ácido nítrico, sulfúrico e perclórico. No entanto, D´Ulivo *et al.* [101] mostraram que o bromo em HBr concentrado pode decompor muitos compostos orgânicos de Se. Isso apresenta uma grande vantagem, pois o ácido perclórico pode ser substituído, uma vez que este apresenta elevada periculosidade. Em 1997 Tyson *et al.* [102], desenvolveram uma metodologia automatizada para a determinação de Se em urina por meio do uso de ácido brômico e de brometo de potássio.

Lavilla *et al*. em 2007 [95] propuseram uma metodologia para a digestão de amostras de peixe e moluscos sem o uso de ácidos do tipo perclórico, e sim por meio da mistura de ácido nítrico e peróxido, bem como digestão por radiação microonda juntamente com radiação ultravioleta em linha. Os mesmos mostraram que a associação dessas duas técnicas foi o suficiente para a recuperação de Se nessas amostras.

Esses resultados mostram, mais uma vez, a importância da digestão das amostras para a formação de hidreto de Se, o qual é de interesse neste capítulo.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Foi empregado o mesmo equipamento mencionado nos Capítulos 1 e 2 e as condições de operação do equipamento foram as sugeridas pelo fabricante (comprimento de onda de 196 nm, fenda de 0,7 nm e corrente da lâmpada EDL de 300 mA). As medidas dos sinais de absorbância foram baseadas em área de sinal (absorbância integrada) e corrigidas do sinal de fundo (BG).

Para a realização das micrografias, o mesmo microscópio eletrônico de varredura empregado nos Capítulos 1 e 2 foi usado neste.

3.2. SISTEMA PROPOSTO PARA GERAÇÃO DE HIDRETOS

O sistema proposto foi o mesmo empregado na determinação de As e Bi, bem como a configuração do atomizador metálico e a composição da respectiva liga metálica foi a mesma.

A descrição do sistema é também a mesma mencionada no item 3.2.1 do Capítulo 1, porém, com a exceção de que, agora, foi usado um padrão de Se para a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema.

3.3. MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes, materiais e procedimento de limpeza das vidrarias mencionados no primeiro Capítulo, foram empregados neste Capítulo com a exceção do ácido sulfâmico para a decomposição das amostras.

3.4. TESTE DE EXATIDÃO

Para o teste de exatidão do método proposto para determinação de Se foram utilizados materiais de referência certificados, tais como: SRM 397 (cabelo humano) provenientes da NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA), Mess-3 (sedimento marinho) proveniente da NRCC (National Research Council Canada) e amostra de urina (Lote 69042) proveniente da Bio-Rad Laboratories GMbH, Munique, Alemanha.

3.5. PREPARO DAS AMOSTRAS

3.5.1 SEDIMENTO MARINHO

Massas de *ca.* 300 mg de amostra foram pesadas em frascos de Teflon e adicionados 5 mL de água régia à cada uma e 2 mL de ácido fluorídrico. Os mesmos foram submetidos à uma pre-digestão por *ca.* 40 min e introduzidos em um forno de microonda para decomposição das amostras. O programa empregado para a decomposição das amostras está presente na tabela 17. Então, foi adicionada uma quantidade (ponta de espátula) de ácido bórico para a eliminação do ácido fluorídrico, com posterior aquecimento em chapa (*ca.* 70ºC), até quase a secura. A amostra filtrada foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL. Um volume de 2 mL desta foi transferido para um balão de 10 mL, completando-se o volume com HCl 7 mol L^{-1}. A solução resultante foi transferida para um frasco plástico, e a mesma foi aquecida em um banho de água à uma temperatura *ca.* 90 ºC por 15 min. Este frasco foi resfriado a temperatura ambiente e o Se(IV) foi quantificado. Este procedimento foi necessário para garantir que todo Se estivesse na forma de Se(IV) [1, 36].

Tabela 17: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de sedimento marinho.

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

3.5.2. AMOSTRA DE CABELO HUMANO

As amostras de cabelo humano foram pesadas em triplicata (*ca.* 300 mg) em frascos de Teflon, sobre as quais, foram adicionados 4,2 mL de ácido nítrico concentrado e 1 mL de ácido sulfâmico 10% (m/v). A quantidade de ácido nítrico foi aquela sugerida por Wietecha *et al.* [103]. Uma pré-digestão de aproximadamente 1 h foi realizada para evitar altas pressões nos frascos de Teflon. Posteriormente, estes foram levados ao forno de microonda para decomposição das amostras, cujo programa está ilustrado na tabela 18. A amostra foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, e após o volume ser completado com HCl 7 mol L^{-1}, uma alíquota de 1,6 mL foi transferida para um balão de 10 mL, completando-se o volume com HCl 7 mol L^{-1}.

A solução resultante foi transferida para um frasco de plástico e a mesma foi aquecida em um banho de água à uma temperatura *ca.* 90 ºC por 15 min. Este frasco foi resfriado a temperatura ambiente e o Se(IV) foi quantificado.

Tabela 18: Programa para decomposição assistida por radiação microonda para a amostra de cabelo humano

Etapa	Tempo/min	Potência/W
1	5	200
2	5	300
3	5	400
4	5	600
5	2	800

3.5.3. AMOSTRA DE URINA

O procedimento para as amostras de urina foi modificado de Coelho [104], ou seja, uma alíquota da amostra de urina foi adicionada em um becker, e o mesmo volume de HNO_3 concentrado foi adicionado à mesma. Após levar a amostra até quase a secura, um volume de 0,8 mL de HCl foi adicionado, e novamente levado à quase secura. O remanescente foi transferido quantitativamente para um balão de 10 mL com HCl 7 mol L^{-1} para posterior quantificação de Se. A solução resultante foi transferida para um frasco de plástico e a mesma foi aquecida em um banho de água à uma temperatura *ca.* 90 ºC por 15 min. Este frasco foi resfriado a temperatura ambiente e o Se(IV) foi quantificado.

3.6 DESEMPENHO ANALÍTICO

O desempenho analítico foi verificado da mesma maneira descrita no item 3.7 do primeiro Capítulo.

3.7. ESTRUTURA DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi iniciado com a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema proposto realizado para determinação de Bi. A otimização das variáveis foi

realizada em termos de absorbância integrada e perfil de sinal, empregando uma solução de concentração de 400 μg L^{-1} para Se. As variáveis estudadas estão apresentadas na tabela 19. O material empregado para a confecção, tanto das alças de amostragem como da bobina de reação, foi de polipropileno.

Tabela 19: Variáveis estudadas para determinação de Se

Variáveis estudadas	**Faixa estudada**
Volume injetado / μL	300 - 2000
Vazão de carregador / mL min^{-1}	6,1 - 13,4
Comprimento da bobina de reação / cm	10 - 90
Vazão de acetileno / L min^{-1}	1 - 4
Vazão de ar / L min^{-1}	8 - 15
Vazão de gás de arraste / mL min^{-1}	10,3 – 165,1
Diâmetro interno do capilar / mm	0,5 - 1,5
Vazão da água de nebulização / mL min^{-1}	1 - 4
Área total de furos do atomizador / mm^2	0 - 115
Concentração de ácido / mol L^{-1}	7*
Concentração de $NaBH_4$ / %	0,1 – 2,0
Concentração de NaOH / %	0,2 – 1,0

*Referência [36]

3.8. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

As micrografias foram obtidas da mesma forma como descrito e ilustrado no item 3.9 do primeiro Capítulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. TESTES COM O ATOMIZADOR DE NÍQUEL E LIGA INCONEL600®

Em virtude da liga INCONEL600® ter se apresentado como a melhor para a determinação de ambos os hidretos, arsina e bismutina, respectivamente, já estudados, também optou-se por esta liga para a confecção do atomizador para a determinação de Se. Porém, um teste com o atomizador de Ni foi realizado para confirmar a ineficiência do mesmo. O resultado foi uma redução do sinal analítico de 8 vezes em relação ao atomizador confeccionado com a liga INCONEL600®, confirmando a escolha por esta liga para a otimização do método.

4.2. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO

4.2.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICAS

As mesmas variáveis físicas anteriormente estudadas de forma univariada, nos Capítulos 1 e 2 foram estudadas para a determinação de Se, por meio de um padrão de Se 400 $\mu g\ L^{-1}$.

As condições iniciais das variáveis físicas do sistema foram: 1600 µL de volume injetado, 100 mL min^{-1} de gás de purga, 4 mL min^{-1} de vazão de H_2O no nebulizador, 11,4 mL min^{-1} de vazão de solução carregadora, 30 cm de bobina de reação, proporção de 3-10 de acetileno-ar, capilar de 1,5 mm d.i., tubo INCONEL600® com área total de furos de 19 mm^2.

A concentração empregada foi àquela indicada na literatura [1, 36], pois em altas concentrações de ácido, a espécie Se(IV) é garantida, uma vez que Se(VI) não forma hidreto.

4.2.1.1. Influência do volume injetado no sistema

Neste capítulo foi verificada a melhor relação entre amostra e redutor para geração do hidreto de selênio, sendo que a melhor proporção amostra:redutor foi a de 1:1, ou seja, um volume de 1,6 mL. Os resultados podem ser visualizados na figura 49.

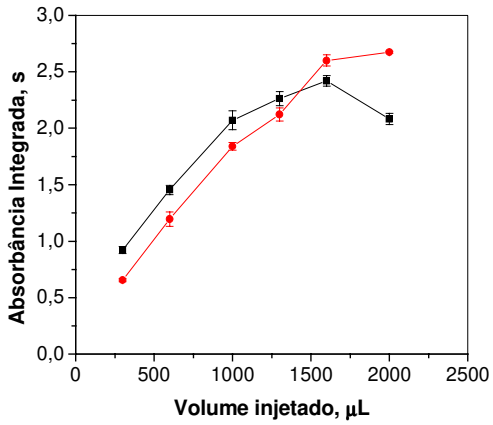


Figura 49*:* Influência dos volumes injetados de amostra e redutor, –▪– Volume de redutor (volume de amostra fixo em 1,6 mL); –•– Volume de amostra (volume de redutor fixo em 1,6 mL). Condições empregadas: Solução de Se 400 µg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.2. Influência do comprimento da bobina de reação

O estudo desta variável está ilustrado na figura 50. Por meio da mesma, pode-se observar que a bobina de reação não é tão importante, pois com somente 10 cm de comprimento se obtém o maior sinal analítico, semelhante ao resultado apresentado para a formação da arsina como descrito no Capítulo 1. Este resultado está de acordo com a literatura, que relata a semelhança entre As e Se em termos de geração de hidretos [1]. No entanto, apesar do resultado com o comprimento da bobina de 10 cm ter sido satisfatório, optou-se por um reator de 30 cm como um compromisso entre resposta analítica e a reprodutibilidade das medidas.

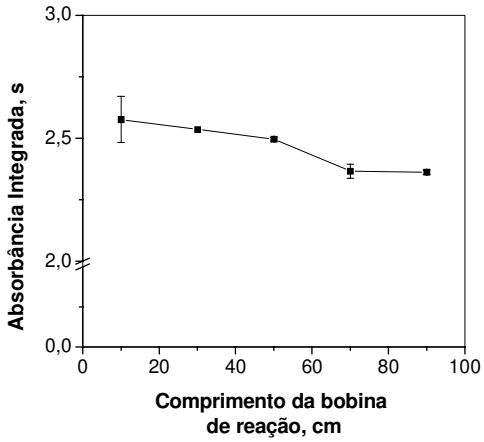
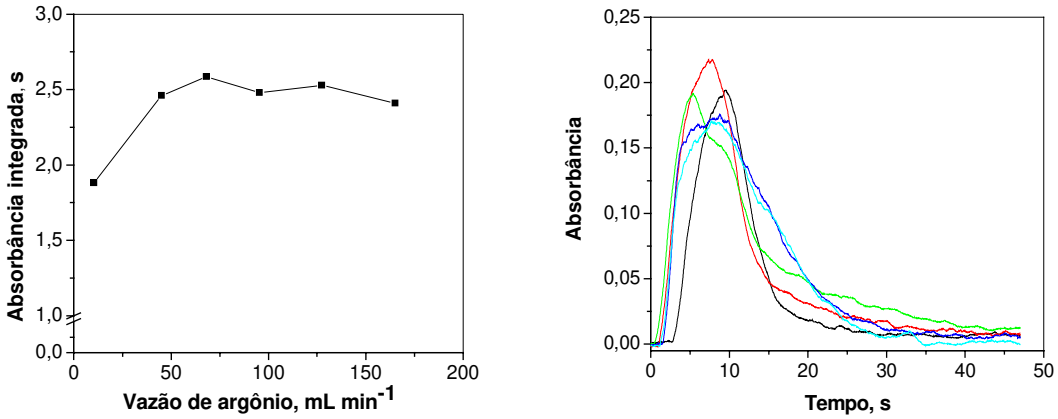


Figura 50*:* Influência do comprimento da bobina de reação. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.3. Influência da vazão de gás de arraste argônio

Este estudo está ilustrado na figura 51, e, por meio desta, podemos dizer que a medida que há um aumento na vazão de argônio, há uma piora em termos de perfil de sinal. Por outro lado, com vazões menores, o sinal analítico apresentou uma queda de *ca.* 8%. Apesar da vazão de argônio de 45 mL min^{-1} ter apresentado um melhor perfil de sinal (figura 51B), optou-se por trabalhar à uma vazão de 68,2 mL min^{-1} pelo fato de ter apresentado um maior sinal analítico. Estes resultados estão de acordo com os apresentados na literatura, a qual relata que em sistemas FIA pode-se conseguir melhoras em termos de sinal analítico com vazões menores de argônio [105, 106].



(A) (B)

Figura 51*:* (A) Influência da vazão de argônio; (B) Perfis de sinais a diferentes vazões de argônio (10,3 mL min^{-1}; 45,1 mL min^{-1}; 68,2 mL min^{-1}; 127,4 mL min^{-1}; 165,1 mL min^{-1}). Condições empregadas: Solução de Se 400 µg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.4. Influência da vazão do carregador

Com relação à vazão da solução carregadora, o sinal analítico diminuiu a medida que a vazão foi aumentada, sendo este efeito mais pronunciado à uma vazão de 13,4 mL min^{-1}, como pode ser visto na figura 52. Porém, o sistema com vazões muito baixas, apresenta baixa freqüência analítica como já mencionado em Capítulos anteriores desta Dissertação. O contrário é verificado com altas vazões de carregador. Portanto, a vazão de 10 mL min^{-1} foi a selecionada como condição de trabalho, buscando relacionar maior absorbância, repetitividade e freqüência analítica.

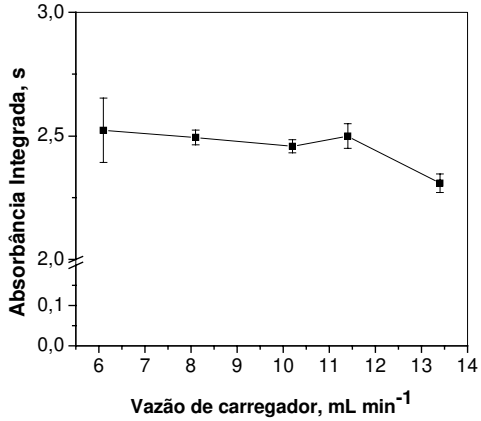


Figura 52: Influência da vazão de carregador. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.5. Influência da vazão de nebulização de água desionizada

Essa variável influencia o sinal analítico do Se semelhantemente ao apresentado para o elemento As. À medida que era aumentada a vazão de água no nebulizador, o sinal analítico diminuía conforme pode ser visto na figura 53. Assim, uma vazão de nebulização mínima de 1 mL min^{-1} foi selecionada para a continuidade do trabalho.

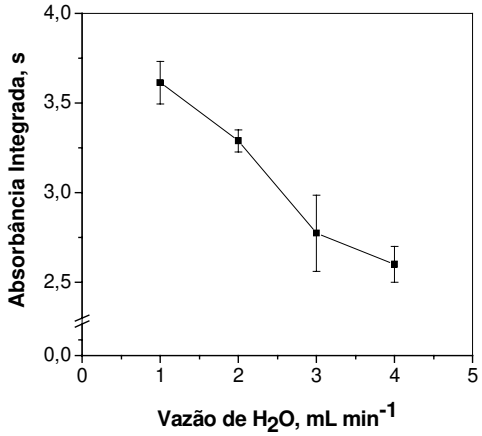


Figura 53: Influência da vazão de água desionizada na câmara de nebulização. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.6. Influência do diâmetro interno do capilar

Também foi avaliado o diâmetro interno do capilar cerâmico (0,5; 1,0 e 1,5 mm) utilizado na introdução de hidreto no tubo INCONEL600®. O melhor resultado foi obtido com o de diâmetro maior, sendo este o selecionado como condição de trabalho. A explicação é a mesma descrita no item 4.3.1.6 do Capítulo 1.

4.2.1.7. Influência da área total de furos do atomizador INCONEL600®

Para a determinação de Se, a área total de furos do atomizador também foi influente em termos de sinal analítico. Esse estudo está ilustrado na figura 54. Por meio da mesma pode-se verificar que a melhor resposta analítica em termos de absorbância integrada foi obtida por meio do uso de um atomizador com 91 mm^2 de área total de furos. Isso pode estar diretamente relacionado com a quantidade de oxigênio que entra no atomizador por meio da chama, uma vez que este favorece o mecanismo de atomização do hidreto de selênio, como proposto por alguns autores [1, 19].

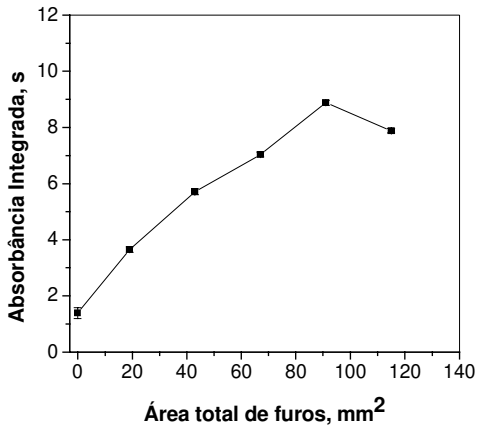


Figura 54: Influência da área total de furos do atomizado. Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$ 1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.1.8. Influência da proporção de ar-acetileno.

As vazões de acetileno e ar foram variadas em 1 - 4 L min^{-1} e 8 - 15 L min^{-1}, de forma univariada, respectivamente. A figura 55 mostra que as melhores vazões foram

de 1 L min^{-1} para acetileno e 15 L min^{-1} para vazão de ar, ou seja, uma chama oxidante.

Por meio dos resultados apresentados neste item e no item 4.2.1.7, tudo indica que o mecanismo de atomização do hidreto de selênio é dependente de oxigênio, como relatado por Kumar e Riyazuddin [19]. Os autores descrevem, por meio de cálculos termodinâmicos, que mesmo aumentando a temperatura, a constante de dissociação do hidreto de selênio não se altera. A equação para este tipo de mecanismo pode ser descrita da seguinte forma:

$$AH_{n(g)} + n/4O_{2(g)} \rightarrow A_{(g)} + {}_{n/2}H_2O \quad (10)$$

O referido mecanismo contradiz aquele de dissociação térmica proposto na literatura [107], pois este mecanismo se baseia no fato de que a sensibilidade aumenta com o aumento da temperatura. A equação do mecanismo por dissociação térmica pode ser da seguinte forma:

$$AH_{(n)} \rightarrow A_{(g)} + {}_{n/2}H_2 \quad (11)$$

Entretanto, vale ressaltar que um mínimo de hidrogênio é necessário para que o hidreto de selênio não se recombine com o oxigênio, formando óxidos do analito, neste caso, SeO_4 [19]. Por outro lado, a queda no sinal analítico, com o aumento da vazão de acetileno, pode ser explicada pelo fato de que o equilíbrio da reação química pode ser deslocado na direção dos reagentes (equação 10), ou seja, da formação do hidreto de selênio [19].

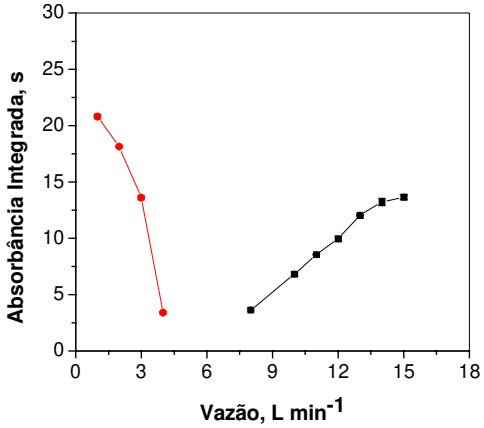


Figura 55: Influência da proporção de gases. –▪–Variação da vazão de ar (vazão de acetileno fixa em 3 L min^{-1}; e –•– variação da vazão de acetileno (vazão de ar fixa em 15 L min^{-1}). Condições empregadas: Solução de Se 400 μg L^{-1}, HCl 7 mol L^{-1}, $NaBH_4$1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

4.2.2. INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS QUÍMICAS

4.2.2.1. Influência da concentração de tetrahidroborato de sódio e de hidróxido de sódio

Para a determinação de hidreto de selênio, também foi utilizado o THB como redutor, pelos mesmos motivos comentados no Capítulo 1. Portanto, foi estudado o efeito de diferentes concentrações (0,1% - 2,0% (m/v)) do mesmo na formação de hidreto de selênio. A concentração que apresentou maior sinal analítico foi a de 0,5% (m/v). Em concentrações muito altas o que ocorre é a formação de grande quantidade de gás hidrogênio, tornando a reação mais turbulenta na cela de separação gás-líquido. Além do mais, em altas concentrações de redutor (em torno de 2% (m/v)), pode ocorrer interferência por parte de metais de transição presentes nas amostras, pois os mesmos também reagem com o redutor que está em excesso [1]. Por outro lado, em concentrações muito baixas (*ca.* 0,2 % (m/v)) há insuficiência de THB; logo, nem todo analito é convertido em hidreto. No entanto, concentrações maiores, cerca de 1% (m/v), somente podem ser usadas no caso de sistemas que apresentam uma ineficiência na mistura da amostra com o redutor, por exemplo, sistemas em batelada [1]. Portanto, no

sistema aqui estudado, a concentração ideal foi a de 0,5% (m/v), a qual é freqüentemente utilizada, segundo a literatura [79].

Com relação a melhor concentração de hidróxido de sódio, a concentração que apresentou um aumento no sinal analítico de 7,5%, foi a de 1% (m/v); logo, esta condição foi a considerada como a ideal de trabalho.

4.2.2.2. Influência da natureza do ácido

Os demais ácidos, HNO_3 e H_2SO_4, foram testados para verificar a sua influência na determinação de Se pelos mesmos motivos mencionados no Capítulo 1.

Por meio da tabela 20 pode ser observado que os ácidos, sulfúrico e nítrico, respectivamente, apresentaram, uma redução do sinal analítico de 33 e 95%. Isso está de acordo com a literatura, que relata a influência, principalmente do ácido nítrico. Nunes *et al.* [108] relatam que o efeito do íon nitrito e gases NO_2 é o mesmo na fase condensada dentro do frasco do forno de microonda, e sugerem a seguinte reação:

$$NO_2^- + H^+ \leftrightarrow HNO_2$$

$$3HNO_2 \leftrightarrow HNO_3 + H_2O + 2NO + O_2 \leftrightarrow 2NO_2$$

Portanto, por esse motivo, é de extrema importância a eliminação total das espécies NO_x formada após a decomposição das amostras, sendo que os autores, sugerem a utilização de ácido sulfâmico para a remoção dessas espécies.

Tabela 20: Influência da natureza dos ácidos na formação do hidreto de selênio. Condições empregadas: Solução de Se 100 µg L^{-1}, $NaBH_4$1% (m/v), NaOH 0,1% (m/v).

Tipo de ácido*	Absorbância Integrada	Redução do sinal (%)
HCl	4,7	-
HNO_3	0,2	95
H_2SO_4	3,2	33

*Concentração de (7 mol L^{-1}).

4.3. DESEMPENHO ANALÍTICO

Terminada todas as otimizações, a construção de uma curva analítica foi obtida, a qual está ilustrada na figura 56. As figuras de mérito do método estão presentes na tabela 21. O LD e LQ foram calculados, segundo a recomendação da IUPAC, da mesma forma descrita no item 4.4 do Capitulo 1. E, para o cálculo da precisão, foram consideradas as réplicas das amostras empregadas no teste de exatidão do método.

Comparando algumas figuras de mérito obtidas para o método proposto com demais técnicas, como apresentado na tabela 22, observa-se que o método proposto apresenta boa detectabilidade se comparado com outros métodos propostos por diferentes autores.

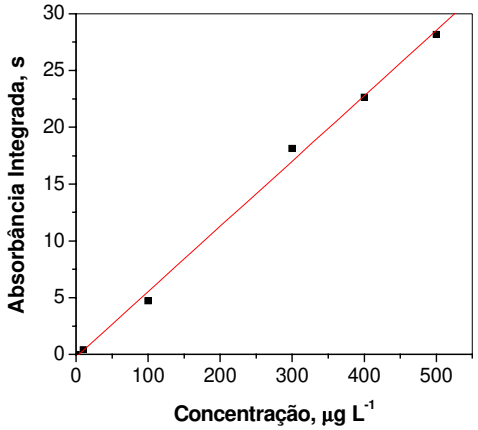


Figura 56: Curva analítica para Se obtida nas condições otimizadas do método.

Tabela 21: Parâmetros analíticos após a otimização do método

Equação da reta	A= -0,2282 + 0,058C
Coeficiente de regressão (R^2)	0,9974
Limite de detecção ($\mu g\ L^{-1}$)*	1,8
Limite de quantificação ($\mu g\ L^{-1}$)**	6
Faixa linear ($\mu g\ L^{-1}$)	6 - 500
RSD (%)#	<10
Freqüência analítica (determinações h^{-1})	37

*LD e **LQ para 10 leituras de branco; # Precisão baseada na repetitividade n=6; C: concentração de Se.

Tabela 22: Figuras de mérito para a determinação de selênio por diferentes técnicas

Figuras de mérito	**Método proposto**	**ETAAS***	**HPLC-HG-AAS****	**HG-QTA-FAAS *****
Limite de detecção ($\mu g\ L^{-1}$)	1,8	3,7	2,4	10,6
Faixa linear ($\mu g\ L^{-1}$)	6 - 500	12 - 80	8 - 250	20 - 200

*[109]; **[110]; ***[111].

4.4. AVALIAÇÃO DOS CONCOMITANTES

Assim como apresentado anteriormente para Bi e As, o hidreto de selênio também é susceptível a interferências. A tabela 23 mostra os resultados da avaliação realizada para a tolerância de Se frente aos interferentes. Por meio da mesma, foi observado que o Se é tolerante a maioria dos concomitantes nas concentrações estudadas, com exceção de Cu, o qual apresentou uma redução do sinal analítico de 35% à uma proporção de 1:50 de analito:interferente, respectivamente. A interferência se torna mais pronunciada a medida que a concentração de cobre aumenta, como pode

ser visto na tabela 23, principalmente à uma proporção de 1:500 de analito:interferente, onde foi possível verificar um precipitado preto na bobina de reação [112].

Tabela 23: Carta de seletividade para a determinação de Se 100 μg L^{-1}.

Concomitante	Proporção Se: concomitante	Recuperação % (n=3)
As	1:10	73 ± 3
	1:100	64 ± 1
Bi	1:10	92 ± 5
	1:100	49± 8
Cu	1:10	100 ± 1
	1:50	65± 4
	1:100	24 ± 3
	1:500	1 ± 2
Fe	1:10	100 ± 1
	1:50	101 ± 3
	1:100	95 ± 2
	1:500	109 ± 2
Mn	1:10	101 ± 3
	1:50	105 ± 1
	1:100	111 ± 3
	1:500	107 ± 2
Ni	1:10	104 ± 3
	1:50	99 ± 6
	1:100	102 ± 2
	1:500	103 ± 2
Pb	1:10	100 ± 1
	1:50	99 ± 2
	1:100	104 ± 1
	1:500	98 ± 1

A explicação pode ser a mesma apresentadano Capítulo 2, ou seja, há uma competição entre redutor, analito e interferente, ou até mesmo, neste caso, a formação de colóide entre interferente, analito e redutor. Por outro lado, a alta concentração de

ácido clorídrico (7 mol L^{-1}) e o elevado potencial de redução do Fe, deve favorecer a formação de cloro-complexo e, por esse motivo, o Fe não interferiu na determinação do Se [113]. Também foi observado que todos os elementos apresentaram efeito de memória, ou seja, após sucessivas leituras do branco, houve uma diminuição gradativa do sinal do mesmo, até a limpeza total do sistema, com a exceção do As. Não foram testadas proporções maiores com As e Bi pelo fato de as amostras não apresentarem altas concentrações para esses dois elementos.

4.5. TESTE DE EXATIDÃO

Para o teste de exatidão do método foram selecionadas amostras de cabelo humano, sedimento marinho e urina humana. A tabela 24 mostra que a quantificação de Se, nas diferentes amostras, apresentou uma concordância com o valor de referência certificado de 95% segundo o teste *t* e *F*.

Tabela 24: Resultados da quantificação de Se nas diferentes amostras obtidos pelo método proposto, (n=3).

Amostra	Faixa aceitável ($\mu g\ L^{-1}$)	Valor certificado ($mg\ kg^{-1}$)	Valor obtido* ($mg\ kg^{-1}$)
Cabelo humano (SRM 397)	-	$2 \pm 0,08$	$1,9 \pm 0,5$
Sedimento Marinho (Mess – 3)	-	$0,72 \pm 0,05$	$0,67 \pm 0,12$
Urina humana (Bio-Rad2)**	165 - 249	-	168 ± 26

*$X \pm t.\sigma/(n)^{1/2}$; n = nº de abertura de amostras
** Lote 69042

4.6. MICROGRAFIAS E MAPEAMENTO

Da mesma forma como descrito no item 4.7 do Capítulo1, foram obtidas micrografias com o atomizador INCONEL600® (91 mm^2 de área total de furos)

empregado após o término do trabalho (*ca.* 4000 determinações). As micrografias obtidas em diferentes partes do atomizador, como descrito no item 3.9 da parte experimental do Capítulo 1, estão apresentadas na figura 57, todas com um aumento de 500x.

Comparando as figuras 57(A-D) com a Figura 57E pode-se dizer que a superfície interna do atomizador, empregado na otimização do método para a determinação de Se, também se alterou, assim como no caso do As e Bi. Porém, só foram visíveis a partir de um aumento de 500x.

Em algumas partes do atomizador foi verificada uma saliência, mais acentuada na parte inferior do atomizador, talvez porque nesta há um contato maior com a chama que penetra no mesmo. Também podemos observar a formação de alguns grânulos esbranquiçados e bem definidos. Os grânulos podem ser verificados com maior clareza na figura 58, como indicado pelas setas, juntamente com o teor dos elementos em alguns pontos da superfície. Podemos inferir que os grânulos podem ser aglomerados de Ni, como mostrado pelo teor de Ni no ponto 2 da figura 59.

Os elementos detectados nas demais partes do atomizador estão apresentados na figura 60, a qual mostra que a distribuição dos elementos foi praticamente a mesma em todas as partes do atomizador. Novamente, houve uma diminuição do teor de carbono e um aumento do teor de oxigênio, sendo mais um indício de que o ambiente oxidante é o mais favorável para a atomização do hidreto de selênio. É interessante ressaltar que o teor de Mn e de Fe, também se alteraram, da mesma forma como apresentado para o As (vide Capítulo 1). Assim as mesmas explicações podem ser dadas aqui. Com relação ao Ni, este provavelmente não interferiu na rota de atomização do hidreto de selênio, por possivelmente ter sido eliminado na forma de óxido, devido ao elevado ambiente oxidante do meio, ou seja, dentro do atomizador.

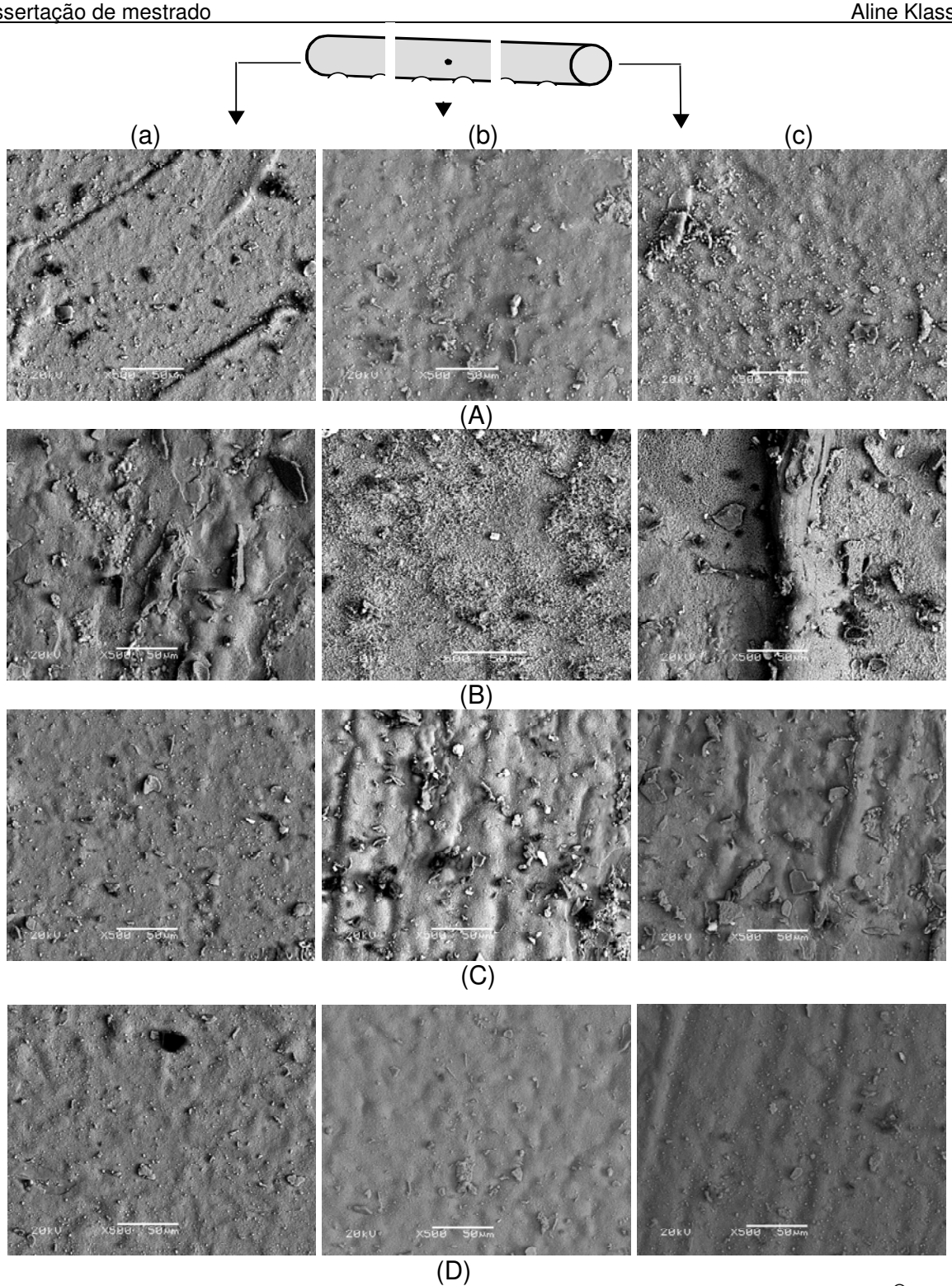
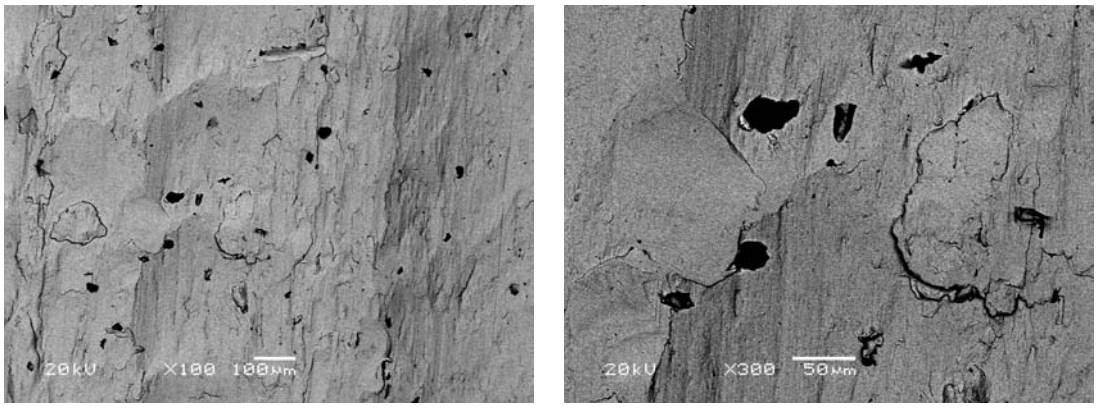


Figura 57: Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador; (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x.



(E)

Figura 57 (continuação): Micrografias das diferentes partes do atomizador INCONEL600®: (A) Parte superior; (B) Parte inferior; (C) Parte de trás; (D) Parte frontal. Micrografias dispostas na seguinte ordem: lado esquerdo (a), central (b) e lado direito (c) do atomizador; (E) Liga INCONEL600® sem uso, lado esquerdo com aumento de 100x e lado direito com aumento de 300x.

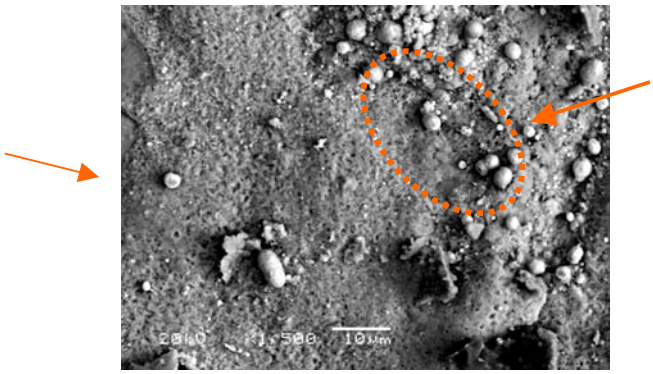


Figura 58: Micrografia do lado esquerdo parte inferior do atomizador. Aumento de 1500x. As setas indicam a formação de grânulos esbranquiçados.

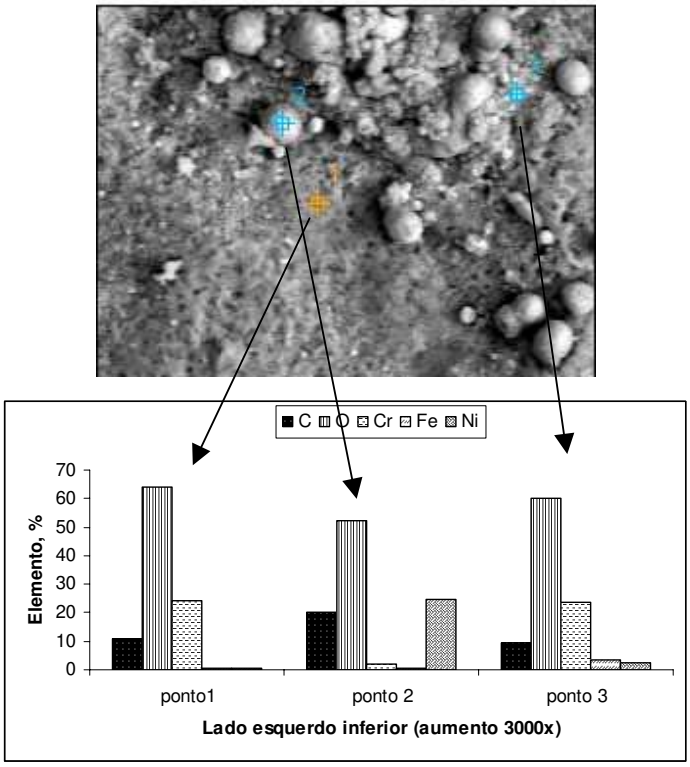
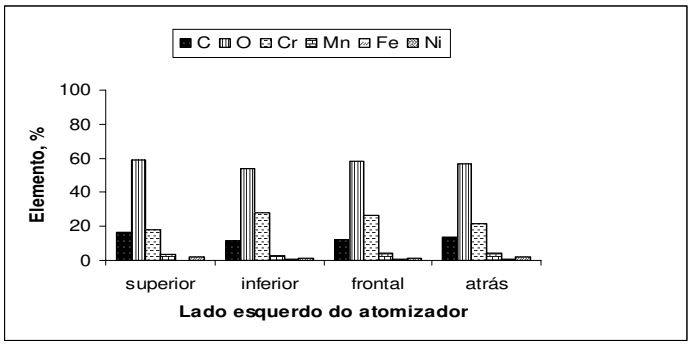
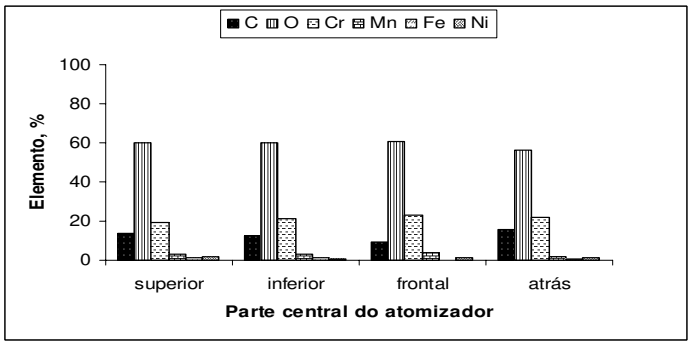


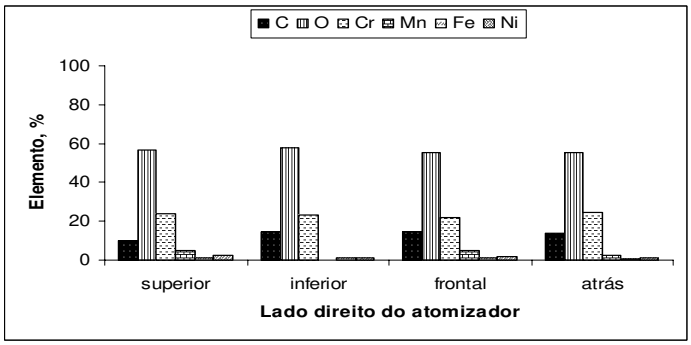
Figura 59: Distribuição dos elementos químicos em alguns pontos da superfície interna, do lado esquerdo inferior do atomizador.



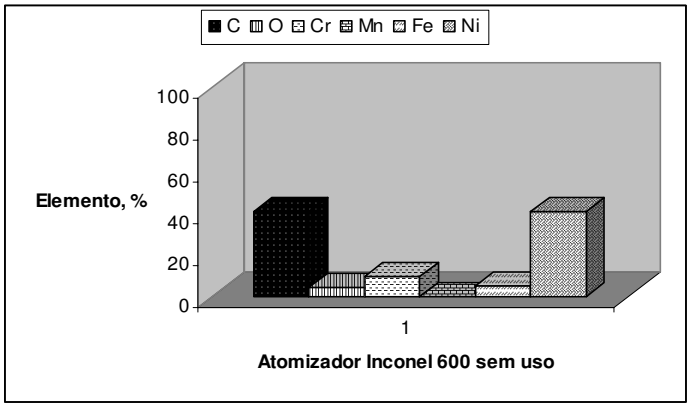
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 60: Composição da superfície do atomizador em diferentes posições. (A - C) e antes do uso (D).

5. CONCLUSÃO PARCIAL

Neste capítulo foram avaliadas todas as variáveis físicas e químicas do sistema empregado para a determinação de Se, bem como realizado o estudo com concomitantes e teste de exatidão do método.

A técnica apresentou-se adequada para a quantificação de Se a baixas concentrações, uma vez que o limite de quantificação apresentado foi de 6 $\mu g\ L^{-1}$ com uma ampla faixa linear (6 – 500 $\mu g\ L^{-1}$).

No tocante aos testes de interferência, a influência do cobre foi verificada, mesmo este estando presente a baixas concentrações; portanto, é necessário que as amostras estudadas não apresentem altas concentrações deste interferente, ou deve ser empregada uma estratégia analítica para sua eliminação/mascaramento da amostra.

O teste de exatidão com os materiais de referência certificados, realizado para o método em questão, apresentou um intervalo de confiança de 95% segundo o teste *t* de student.

Portanto, o atomizador de liga INCONEL600® pode ser empregado com eficácia para a determinação de Se por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos.

Com relação às micrografias, verificou-se que a superfície interna se alterou, porém, de forma menos acentuada se comparada com as micrografias apresentadas para As e Bi. A alteração da superfície foi mais uniforme em todas as partes do atomizador, com possível formação de óxido de cromo. A diminuição do teor de carbono sugere, mais uma vez, que o ambiente favorável para a atomização do hidreto de selênio é oxidante.

CONCLUSÕES FINAIS

Nesta Dissertação procurou-se avaliar a eficiência de um atomizador metálico na técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, e, a hipótese inicial, de que um tubo metálico pudesse ser empregado na técnica de HG-AAS, foi comprovada.

A sua eficiência pôde ser comparada com alguns trabalhos da literatura que empregam tubo de quartzo, para as determinações de Bi e Se. Para estes dois elementos, o atomizador metálico se apresentou de mais fácil manuseio, se comparado com a determinação de As, em virtude deste elemento necessitar de um pré-tratamento do tubo e de uma espera *ca.* 30 min para se obter uma resposta constante do sinal analítico.

Por fim, foi testada a eficiência dos métodos propostos com o uso de materiais de referência, bem como de amostras de interesse medicinal. Assim o atomizador metálico, apresentou-se como uma alternativa eficiente para a quantificação desses elementos nesses tipos de amostras. Ainda mais, a atomização do hidreto de Se foi dependente de oxigênio com atomizador metálico, semelhantemente à proposta de atomização apresentada por alguns autores comatomizador de quartzo.

Por meio das imagens obtidas pela técnica SEM, bem como da detecção por Raios-X, foi possível verificar que cada analito alterou de forma distinta, tanto a morfologia interna do atomizador, quanto a composição da superfície interna do atomizador INCONEL600®. Por meio dos resultados apresentados e com trabalhos da literatura, foi possível inferir algumas possíveis explicações para as alterações ocorridas na superfície interna do atomizador. Para As, por exemplo, após o tratamento com padrão concentrado de As, foi possível verificar alterações no teor de Ni e Cr na superfície do atomizador. Assim, um ambiente que não interfere e/ou é favorável à atomização da arsina, foi gerado, isto é, a formação de uma camada de óxido de cromo.

Já para o Bi, este estudo mostrou a formação de nanotubos de carbono na superfície do atomizador empregado para a determinação de Bi. Esses nanotubos apresentam grande aplicabilidade na química analítica, umas vez que podem ser usados como material pré-concentrador. Sendo assim, após o estudo com o

concomitante Fe, uma pré-concentração *in situ* pode ter se formado no interior do atomizador, podendo justificar amelhora na sensibilidade do método. Esses resultados mostram um campo de investigações relacionadas a rotas de atomização da bismutina.

Com relação às morfologias obtidas na superfície do atomizador empregado para a determinação de Se, estas apresentaram uma menor alteração na superfície interna do atomizador, e por conseqüência foram menores as dificuldades durante o decorrer do trabalho.

Por fim, analisando os resultados apresentados, podemos concluir que as metodologias propostas por meio do uso do atomizador de liga metálica INCONEL600®, na técnica de geração de hidretos, apresentaram-se como uma alternativa eficiente e barata para a quantificação de As, Bi e Se.

Adicionalmente, devido a constituição física, tubos metálicos são muito mais resistentes se comparados aos demais atomizadores empregados na técnica HG-AAS, e devido ao seu baixo custo (*ca.* R$ 14,00 cada tubo), seu emprego em trabalhos de rotina podem vir a ser uma realidade. Além do mais, atomizadores metálicos apresentam-se como uma alternativa para estudar elementos que são difíceis de gerarem hidretos, como os metais de transição.

Por fim, os resultados aqui apresentados, propiciam um amplo campo de investigações de novas reações envolvidas em cada ambiente, principalmente no caso dos anaotubos de carbono, ampliando os estudos envolvendo geração de hidretos.

BIBLIOGRAFIA

[1] Dědina, J., Tsalev, D.L.; *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry,* Nova York**:** John Wiley & Sons Ltda**, 1995**, 526 p.

[2] Petrov, P.K.; Serafimovski, I.; Stafilov, T.; Tsalev, D.L.; *Flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometric determination of toxicologically relevant arsenic in urine,* **Talanta**, **2006**, 69, 1112-1117.

[3] Suárez, C.A.; Giné, M.F.; *A reactor/phase separator coupling capillary electrophoresis to hydride generation and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (CE-HG-ICP OES) for arsenic speciation***, J. Anal. At. Spectrom.**, **2005**, 20, 1395-1397.

[4] Vieira, M.A.; Saint'Pierre, T.D.; Welz, B.; Curtius, A.J.; *Determination of As, Hg, Se and Sn in sediment slurries by CVG-ETV-ICP-MS with trapping in an Ir treated graphite tube and calibration against standards*, **J. Anal. At. Spectrom., 2004**, 19, 297-300

[5] Latva, S.; Hurtta, M.; Peraniemi, S.; Ahlgrén, M.; *Separation of arsenic species in aqueus solutions and optimization of determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry*, **Anal. Chim. Acta**, **2000**, 418, 11-17.

[6] Grinberg, P.; Takase, I.; Campos, R.C.; *Characterization and vapour phase interference studies of a flame heated holed quartz T-tube as atomization cell for hydride generation atomic absorption spectrometry,* **J. Anal. Atom. Spectrom.**, **1999**, 14, 827-830.

[7] Dědina, J.; Matoušek, T.; *Multiple microflame – a new approach to hydride atomization for atomic absorption spectrometry***, J. Anal. At. Spectrom**,**. 2000**, 15, 301-304.

[8] Dědina, J.; D'Ulivo, A.; *Argon shielded, highly fuel-rich, hydrogen-oxygen diffusion microflame – a new hydride atomizer*, **Spectrochim. Acta**, **part B**, **1997**, 52, 1737-1746.

[9] Ribeiro, A.S., Arruda, M.A.Z., Cadore, S.; *Determination of bismuth in metallurgical materials using a quartz tube atomizer with tungsten coil and flow injection-hydride-generation atomic absorption spectrometry*, **Spectrochim. Acta**, **part B**, **2002**, 57, 2113-2120.

[10] Brancalion, M.L.; Arruda, M.A.Z.; *Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS*, **Microchim. Acta**, **2005**, 150, 283-290.

[11] Gáspár, A.; Berndt, H.; *Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a simple method for trace element determination with microsamples in the µg/L concentration range*, **Spectrochim. Acta, part B, 2000, 55**, 587-597

[12] Brancalion, M.L.; Sabadini, E.; Arruda, M.A.Z., *Description of the thermospray formed at low flow rate in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry based on high-speed images*, **Anal. Chem**., doi:10.1021/ac**07**0453n.
.
[13] Figueiredo, E. C.; Dědina, J.; Arruda, M.A.Z*; Metal Furnace heated by flame as a hydride atomizer for atomic absorption spectrometry: Sb determination in environmental and pharmaceutical samples*; **Talanta**, doi: 10.1016/j.talanta. **2007**.04.021.

[14] Walsh, A.; The application of atomic absorption spectra to chemical analysis, **Spectrochim. Acta part B, 1955**, 108-117.

[15] Welz, B. e Sperling, M.; *Atomic Absorption Spectrometry*, 3nd ed., Weinhein, Alemanha, John Wiley, 1999,: 965 p.

[16] L'Vov, B.V., *The analytical use of atomic absorption spectra*, **Spectrochim. Acta part B, 1961**, 17, 761-770.

[17] Smichowski, P.; Farías, S.; *Advantages and analytical applications of choride generation. A review on vapor generation methods in atomic spectrometry*, **Microchemic. Jour., 2000,** 67, 147-155.
,
[18] HolaK, W.; *Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry*, **Anal. Chem., 1969,** 41, 1712 – 1713.

[19] Kumar, A.R.; Riyazuddin, P., *Mechanism of volatile hydride formation and their atomization in hydride generation atomic absorption spectrometry*, **Rev. Anal. Sci, 2005,** 21, 1401-1410.

[20] Kinniburgh, D.G.; Kosmus, W.; *Arsenic contamination in groundwater: some analytical considerations*, **Talanta, 2002,** 58**,**165-180

[21] D´Ulivo, A.; Loreti, V.; Onor, M.; Pitzalis, E.; Zamboni, R.; *Chemical vapor generation atomic spectrometry using amineboranes and cyanotrihydroborate(III) reagents*, **Anal. Chem., 2003,** 75, 2591-2600.

[22] D´Ulivo, A.; Mester, Z.; Sturgeon, R.E.; *The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometry study performed with deuterium labeled reagents*, **Spectrochim. Acta part B, 2005**, 60, 423-438.]

[23] D´Ulivo, A.; Mester, Z.; Meija, J.; Sturgeon, R.E.; *Mechanism of generation of volatile hydride of trace elements by aqueous tetrahydroborate(III). Mass spectrometric studies on reaction products and intermediates*, **Anal. Chem., 2007**, 79, 3008-3015.

[24] Braman, R.S.; Justen, L.L.; Foreback C.C.; *Direct volatilization-spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony,* **Anal. Chem., 1972,** 44, 2195-2199.

[25] Thompson, K.C.; Thomerson, D.R.; *Atomic-absorption studies on the determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilizing the generation of covalent hydrides*, **Analyst, 1974,** 99, 595-601.

[26] Cadore, S.; Determinação de Bi por absorção atômica com geração de hidretos (BiH_3) por sistema de injeção em fluxo. Campinas, **1991,** 126 p. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP).

[27] Cadore, S.; Baccan, N.; *Continuous hydride generation system for the determination of trace amounts of bismuth in metalurgical materials by atomic absorption spectrometry using an on-line stripping-type generator/gas-liquid separator*, **J. Anal. At. Spectrom., 1997**, 12, 637-642.

[28] Kan, K –T., An automated method for the determination of arsenic and antimony, **Anal. Lett., 1973**, 6, 603-611.

[29] Ruzicka, J.; Hansen, E.H., Flow Injection Analysis, Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Anal. Chim. Acta, 1975**, 78, 145-157.

[30] Chan, C.Y.; Baig, M.W.A.; Pitts, A.E.; *Semi-automated method for the determination of bismuth in rocks,* **Anal. Chim. Acta, 1979**, 111, 169-176.

[31] Aström, O.; Flow injection analysis for the determination of *bismuth by atomic absorption spectrometry with hydride generation*, **Anal. Chem., 1982**, 54, 190-193.

[32] Schimdt, F.J.; Royer, J.L.; Muir, S.M.; *Automated determination of arsenic, selenium, antimony, bismuth and tin by atomic absorption utilizing sodium borohydride reduction*, **Anal. Lett**., **1975**, 8, 123-128.

[33] Quináia, S.P.; Rollemberg, M.C.E.; *Selective reduction of arsenic species by hydride generation – atomic absorption spectrometry. Part 2 - Sample storage and arsenic determination in natural waters*, **J. Braz. Chem. Soc. 2001**, 12, 37-41.

[34] Bruhn, C.G.; Bustos, C.J.; Sáez, K.L.; Neira, J.X.; Alvarez, S.E., *A comparative study of chemical modifiers in the determination of total arsenic in marine food by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry*, **Talanta, 2007**, 71, 81-89.

[35] Smith, A.E.; I*nterferences in the determination of elements that form volatile hydrides with sodium borohydride using atomic-absorption spectrophotometry and the argon-hydrogen flame*, **Analyst**, **1975**, 100, 300-306.

[36] Stripeikis, J.; Tudino, M.; Troccoli, O.; Wuilloud, R.; Olsina, R.; Martinez, L.; *On-line copper and iron removal and selenium (VI) pre-reduction for the determination of total*

selenium by flow-injection hydride generation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Spectrochim. Acta**, **part B**, **2001**, 56, 93-100.

[37] Liu, H.; Chen, S.; Chang, P.; Tsai S.J.; *Determination of bismuth, selenium and tellurium in nickel-based alloys and pure copper by flow-injection hydride generation atomic absorption spectrometry - with ascorbic acid prereduction and cupferron chelation-extraction,* **Anal. Chim**, **Acta**, **2002**, 459, 161-168.

[38] *Takase, I., Luna, A.S., Campos, C.R.; The use of 2-2-thiazolylazo-p-cresol to minimize the interference of Ni and Cu for the bismuth determination in alloys by hydride generation atomic absorption spectrometry,* **Talanta**, **2003**, 61, 597-602.

[39] Hall, G.E.M.; MacLaurin, A.I.; Pelchat, J.C.; Gauthier G.; *Comparison of the techniques of atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry in the determination of Bi, Se and Te by hydride generation*, **Chem. Geology**, **1997**, 137, 79-89.

[40] Dalton, E.F.; Malanoski, A.J.; *Note on the determination of arsenic by atomic absorption by arsine generation into an argon-hydrogen entrained air flame*, **At. Absorption Newsl., 1971**,10, 92 – 93.

[41] Robinson, J.W.; *Observations in atomic absorption spectroscopy*, **Anal. Chim. Acta**, **1962**, 27, 465-469.

[42] Delves H.T.; *A simple micro-sampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic-absoption spectrophotometry*, **Analyst, 1970**, 95, 431-438.

[43] Goulden, P.D.; Broosksbank, P.; *Automated atomic absorption determination of arsenic, antimony, and selenium in natural waters*, **Anal. Chem., 1974,** 46, 1431-1436.

[44] Siemer D.D.; Hagemann, L.; *An improved hydride generation atomic absorption spectrometry apparatus for selenium determination*, **Anal. Lett**., **1975,** 8, 323-337.

[45] Dědina J.; *Quartz tube atomizers for hydride generation atomic absorption spectrometry: mechanism of selenium hydride atomization and fate of free atoms*, **Spectrochim. Acta, part B, 1992**, 47, 689-700.

[46] Agterdenbos, J.; van Noort, J. P. M.; Peters, F.F.; Bax, D.; *The determination of selenium with hydride generation AAS-III. The role of oxygen and the cuvette wall*, **Spectrochim. Acta, part B,1986**, 41, 283-290.

[47] Matusiewicz, H.; Krawczyk, M., *On-line hyphenation of hydride generation with in situ trapping flame atomic absorption spectrometry for arsenic and selenium determination*, **Anal. Sci., 2006**, 22, 249-253.

[48] Li, X.; Jia, J.; Wang, Z.; *Speciation of inorganic arsenic by electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry*, **Anal. Chim. Acta, 2006**, 560, 153 -158.

[49] Dědina, J.; *Interference of volatile hydride forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation*, **Anal. Chem., 1982**, 54, 2097-2102.

[50] Brancalion M.L.; Avaliação de aspectos configuracionais e analíticos da técnica TSFFAAS, Campinas, **2006**, p. 75-85. (Dissertação de mestrado - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP).

[51] Pereira-Filho, E.R.; Berndt, H.; Arruda, M.A.Z.; *Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction*, **J. Anal. At. Spectrom.**, **2002**, 17, 1308-1315.

[52] Tarley, C.R.T.; Arruda, M.A.Z.; *A sensitive method for cadmium determination using an on-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry,* **Anal. Sci.**, **2004**, 20, 961-966.

[53] Nascentes, C.C.; Arruda, M.A.Z.; Nogueira, A.R.A.; Nóbrega, J.A.; *Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*, **Talanta, 2004**, 64, 912-917.

[54] Nascentes, C.C.; Kamogawa, M.Y.; Fernandes, K.G.; Arruda, M.A.Z.; Nogueira, A.R.A.; Nóbrega, J.A.; *Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*, **Spectrochim. Acta, part B, 2005**, 60, 749-753.

[55] Mannheimer, W.A.; *Microscopia dos Materiais, Uma introdução*, Rio de Janeiro: e-papers, 2002, p. 1-7, cap 2.

[56] Cecil E.; Hall.; *Introduction to Electron Microscopy*, 2nd. ed. Estados Unidos da América: Mc Graw-Hill, 1966. p. 1-3.

[57] Michler, G.H.; *Electron-microscopy in Polymer Science*, **Appl. Spectrosc. Rev., 1993**, 28, 327.

[58] Sebastião, V.; Canevarolo, Jr., *Técnicas de caracterização de polímeros*, São Paulo: Artliber Editora Ltda**,** 2003. p. 165-175.

[59] Welz, B.; Curtius, A.J.; Schlemmer, G.; Ortner, H.M.;Birzer, W., Scanning alectron microscopy studies on surfaces from electrothermal atomic absorption spectrometry – III. The lanthanum modifier and the determination of phosphorus, **Spectrochim. Acta. part B**, **1986**,41, 1175- 1201.

[60] Pereira-Filho, E.R.; Pérez, C.A.; Poppi, R.J., Arruda, M.A.Z.; *Metals, distribution and investigation of L´vov plataform surface using principal component analysis, multi-way principal component analysis, micro synchrotron radiation X-ray fluorecence*

spectrometry and scanning electron microscopy after the determination of Al in a milk slurry sample, **Spectrochim Acta, part B, 2002**, 57, 1259-1276.

[61] Flores, A.V.; Pérez, C.A.; Arruda, M.A.Z.; *Evalution of a synergetic effect between Rh as permanent chemical modifier and acetylacetone as complexing agent in Sc determination in sediment slurry samples by ETAAS*, **Anal. Chim. Acta, 2005**, 530, 299-305.

[62] Pereira-Filho, E.R.; Análise de suspensões de materiais biológicos por espectrometria de absorção atômica: Novas alternativas em atomização empregando análise quimiométrica, Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, **2003**, p. 149-153.

[63] Gilman, A.G.; Hardman, J.G.; Limbird, L.E.; Molinoff, P.B.; Ruddon, R.W.; *As bases farmacológicas da terapêutica,* 9ª ed. Santiago, Chile: McGraw-Hill interamericana editores, S.A. de C.V, 1996. p. 669-682 e p. 1230-1232.

[64] Rousselot, P.; Labaume, S.; Marolleau, J-P.; Larghero, J.; Noguera, M-H.; Brouet, J-C.; Fermand, J.P.; *Arsenic trioxide and melarsoprol induce apoptosis in plasma cell lines and in plasma cells from myeloma patients*, **Cancer Res., 1999**, 59**,** 1041-1048.

[65] Hindmarsh, J.T.; *Caveats in hair analysis in chronic arsenic poisoning*, **Clin. Biochem., 2002**, 35, 1-11.

[66] Chappell W.R.; Beck B.D.; Brown K.; North D.W.; Thornton I.; Chaney R.; Cothern C.R.; Irgolic, K.J.; Tsongas T.; *Inorganic Arsenic: a need and an opportunity to improve risk assessment*; **Environ. Health Perspect., 1997**, 105, 1060-1067.

[67] Mazumder D.N.G.; Haque R.; Ghosh N.; De B.K.; Santra A.; Chakraborty D.; Smith A.H., *Arsenic level in drinking water and the prevalence of skin lesions in West Bengal ,Índia,* **Int. J. Epidemiol., 1998,** 27**,** 871-877.

[68] EPA. Environmental Protection Agency. Disponível em: www.epa.gov/safewater. Acessado em: maio /2007.

[69] Krug, F.J.; *Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 6ª ed, 2006, Apostila.

[70] Quevauviller, P.; Imbert, J.; Ollé, M.; *Evalution of the use of microwave oven systems for the digestion of environmental samples*, **Mikrochim. Acta, 1993**, 112, 147-154.

[71] Jones, J. W.; Capar, S. G., *Critical Evaluation of multi-element scheme using plasma emission and hydride evolution atomic-absorption spectrometry for the analysis of plant and animal tissues*, **Analyst**, **1982**, 107, 353-377.

[72] Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.;Gardner, G.J.; *Vapor Generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry*, **Anal. Chem.**, **2004**, 76, 2401-2405.

[73] Ribeiro, A.S.; Arruda, M.A.Z.; Cadore, S.; *A quartz tube atomizer with tungsten coil: a new system for vapor atomization in atomic absorption spectrometry*, **J. Anal. At.**, **Spectrom.**, **2002**, 17, 1516-1522.

[74] Bergamin, H.; Zagato, E.A.G.; Krug, F.J.; Reis, B.F.; *Merging zones in flow injection analysis Part .1. double proportional injector and reagent consumption*, **Anal. Chim. Acta, 1978**, 101, 17-23.

[75] Miller, J.C.; Miller, J.N.; Statistics for Analytical Chemistry, 3nd ed. London, Reino Unido: Ellis Horwood, 1993. p. 109.

[76] Dean, J.A.; Handbook of Chemistry, 13nd ed. Estados Unidos da América: McGraw-Hill, 1985. p. 38, seção 9.

[77] Atkins, P.W., Físico-Química, 6a ed, Rio de Janeiro: Editora LTC, 1997. p. 91.

[78] Nakua, A.M.; Greedan, J.E., *Structural and Magnetic Properties of Transition Metal Arsenates, AAs_2O_6 = Mn, Co, and Ni*, **J. Solid. State Chem**., **1995,** 118, 402-411.

[79] Narsito; Agterdenbos, J.; *Study of processes in the hydride generation atomic absorption spectrometry of antimony, arsenic and selenium*, **Anal. Chim. Acta, 1990**, 237, 189-199.

[80] Welz, B.; Melcher, M.; *Investigations on atomization mechanisms of volatile hydride-forming elements in a heated quartz cell*, **Analyst, 1983**, 108, 213-224.

[81] Akman, S.; Genç, Ö.; Balkiş, T.; *Atom formation mechanisms of As with different techniques in atomic absorption spectroscopy*, **Spectrochim. Acta, part B, 1982**, 37, 903-912.

[82] Inczédy, J.; lengyel, T.; Ure, A.M., Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules 1997, 3nd. ed., IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry Division, 1997. Disponível em: Http://www.iupac.org. Acessado em: maio de 2007.

[83] Daus, B.; Mattusch, J.; Wenrich, R.; Weiss, H., *Investigation on stability and preservation of arsenic species in iron rich water samples*, **Talanta**, **2002**, 58, 57-.65.

[84] Welz, B.; Melcher, M.; *Mechanism of transition metal interferences in hydride generation atomic-absorption spectrometry Part 2., Influence of the valency state of arsenic on the degree of signal depression caused by copper, iron and nickel*, **Analyst**, **1984**, 109, 573-575.

[85] Greenwood, N.N.; Earnshaw, A., *Chemistry of the Elements*, 2nd ed. Inglaterra: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, 1997. p. 1040-1075.

[86] Pedersen, L.H.; Stoltenberg, M.; Ernst, E.; West, M.J., *Leydig cell death in rats exposed to bismuth subnitrate*, **J. Appl. Toxicol., 2003**, 23, 235-238.

[87] Slikkerveer, A.; Helmich, R.B.; Wolff, F.A. *Analysis for bismuth by electrothermal atomic absorption spectrometry*, **Clin. Chem., 1993**, 39, 800-803.

[88] Welz, B; Melcher, M., *Determination of antimony, arsenic, bismuth, selenium, tellurium and tin in metallurgical samples using the hydride AA technique-I. Analysis of low-alloy steels,* **Spectrochim.**, **Acta**, **1981**, 36B, 439-462.

[89] Chan, W.; Hon, P., *Bismuth(III) hydride generation, its separation and the determination of Bi(III) by atomic absorption spectrometry using flow injection* , **Analyst**, **1990**, 115, 567-569.

[90] Yamamoto, M.; Yasuda M.; Yamamoto, Y., *hydride generation atomic absorption spectrometry coupled with flow injection analysis,* **Anal. Chem.**, **1984**, 57, 1382-1385.

[91] Romero, J.G.V.; Luengo, C.A.; Huber, J.G.; Rosolen, J.M., *Síntese de nanotubos de carbono de parede simples por sublimação de grafite em atmosfera de hélio*, **Química Nova, 2002**, 25, 59-61.

[92] Tarley, C.R.T.; Barbosa, A.F.; Segatelli, M.G.; Figueiredo, E.C.; Lucas, P.O., *Highly Improved Sensitivity of TS-FF-AAS for Cd (II) determination at ng L-1 levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes*, **J.Anal. At. Spectrom., 2006**, 21, 1305-1313.

[93] Bye, R., *The masking effect of iron(III) on the interference from nickel and copper in the determination of tellurium by hydride generation/atomic absorption spectrometry*, **Anal. Chim. Acta**, **1988**, 208, 347-350.

[94] Połatajko, A; Jakubowski, N.; Szpunar, J., *State of the art report of selenium speciation in biological samples*, **J.Anal. At. Spectrom., 2006,** 21, 639-654.

[95] Lavilla, I.; González-Costas, J.M.; Bendicho, C., *Improved microwave-assisted wet digestion procedures for accurate Se determination in fish and shellfish by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry*, **Anal. Chim. Acta**, **2007**, 591, 225-230.

[96] Viñas, P.; López-Garcia, I.; Merino-Meroño, B.; Campillo, N.; Hernández-Córdoba, M.; *Determination of selenium species in infant formulas and dietetic supplements using liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence spectrometry,* **Anal. Chim. Acta, 2005**,535, 49-56.

[97] Jia, X.; Li, N.; Chen, J., *A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats*, **Life Sci., 2005**, 76, 1989–2003.

[98] Yang, J.; Conver, S.T.; Koropchak, J.A., *Direct speciation of selenite and selenate with thermospray sample introduction methods,* **Anal. Chem., 1996**, 68, 4064 – 4071.

[99] Lim, T-T.; Goh, K-H., *Selenium extractability from a contaminated fine soil fraction: implication on soil cleanup*, **Chemosphere, 2005**, 58, 91-101.

[100] Welz, B.; Melcher, M.; Néve, J., *Determination of selenium in human body fluids by hydride-generation atomic absorption spectrometry*: *Optimization of sample decomposition*, **Anal. Chim. Acta**, **1984**, 165, 131-140.

[101] D'Ulivo, A.; Lampugnani, L.; Sfetsios, I.; Zamboni, R., *Studies on total selenium determination in biological samples by hydride generation non-dispersive atomic fluorescence spectrometry after hydrobromic acid/bromine wet digestion* **Spectrochim. Acta, part B, 1993***,* 48, 387-402*.*

[102] Tyson, J.F.; Sundin, N.G.; Hanna, C.P.; McIntosh, S.A., *Determination of Se in urine by flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry with in-atomizer trapping*, **Spectrochim. Acta, part B, 1997**, 52, 1773-1781.

[103] Wietecha, R.; Kościelniak, P.; Lech, T.; Kielar, T., *Simple method for simultaneous determination of selenium and arsenic in human hair by means of atomic fluorescence spectrometry with hydride generation technique*, **Microchim. Acta, 2005**, 149, 137-144.

[104] Coelho, N.M.M.; Pré-Concentração e Determinação de Selênio por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidreto em um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo, Campinas, 1997**,** p. 58-59. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de – Unicamp).

[105] Welz, B.; Schubert-Jacobs, M., *Evalution of a FI system and optimization of parameters for HGAAS*, **Atom. Spectrosc**, **1991**, 12, 91-104.

[106] Moreda-Piñeiro, J.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Fernández-Fernández, E; Prada-Rodrígues, D., *Direct As, Bi, Ge and Se(IV) cold vapor/hydride generation from coal fly ash slurry samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry*, **Spectrochim. Acta**, **part B**, **2002**, 57, 883-895.

[107] Agterdenbos, J.; van Noort, J. P. M.; Peters, F.F.; Bax, D.; Ter Heege J. P.;*The determination of selenium with hydride generation AAS-I. Description of the apparatus used and study of the reactions in the absorption cuvette*, **Spectrochim. Acta**, **part B**, **1985**, 40, 501 - 515.

[108] Nunes, D.L.; Santos, E.P.; Barin, J.S; Mortari, S.R.; Dressler, V.L.; Flores, E.M.M., *Interference of nitrite and nitrogen dioxide on mercury and selenium determination by*

chemical vapor generation atomic absorption spectrometry, **Spectrochim. Acta, part B, 2005**, 60, 731-736.

[109] Sahin, F.; Volkman, M.; Ataman, O. Y., *Effect of nitric acid for equal stabilization and sensitivity of different selenium species in eletrothermal atomic absorption spectrometry,* **Anal. Chem. Acta**, **2005**, 547, 126-131.

[110] Niedzielski, P., *The new concept of hyphenated analytical system: Simultaneous determination of inorganic arsenic (III), arsenic (V), selenium (IV) and selenium (VI) by using performance liquid chromatography-hydride generation-(fast sequential) atomic absorption spectrometry during single analysis*, **Anal. Chim. Acta**, **2005,** 551, 199-206.

[111] Maleki, N.; Safavi, A.; Doroodmand, M., *Determination of selenium in water and soil by hydride generation atomic absorption spectrometry using solid reagents*, **Talanta**, **2005**, 66, 858-862.

[112] Bye, R., *Determination of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry: elimination of interferents from very high concentrations of nickel, cobalt, iron and chromium by complexation*, **J. Anal. At. Spectrom.**, **1995**, 10, 803-808.

[113] Bye, R., *Iron(III) as releazing agent for copper interference in the determination of selenium by hydride-generation atomic absorption spectrometry*, **Anal. Chim. Acta**, **1987**, 192, 115-117.