

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

C65p Coelho, Nivia Maria Melo
Pré-concentração e determinação de selênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto em um sistema de análise por injeção em fluxo / Nivia Maria Melo Coelho. -- Campinas, [SP : s.n.], 1995.

Orientador: Nivaldo Baccan.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

1. Selênio. 2. Geração de hidreto. 3. Espectrometria de absorção atômica. I. Baccan, Nivaldo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.



UNIDADE I 2
N.º CHAMADA:
TUMICAMP
C 65P
V. Ex.
TOMAS 30/26680
PROC. 667/96
C [] 0 1 1
PRECO R\$ 11,00
DATA 31/4/96
N.º CPD CM.00087320-7

Aquele que é o princípio e o fim de todas as coisas.

A Ele seja toda a minha vida!

*À minha família e
a um amigo muito especial.*

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Química - UNICAMP pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal e de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa de estudos;

Aos professores e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP que, direta ou indiretamente, nos ajudaram no decorrer deste trabalho;

Aos amigos, pela amizade e contribuições durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho;

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, de quem aguardo críticas e sugestões.

Em especial, ao Prof. Dr. Nivaldo Baccan, pela sua orientação.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO I	
Introdução.....	01
CAPÍTULO II	
Revisão	05
Bibliográfica.....	
II . 1 - O Selênio.....	05
II . 1 . a - Histórico e ocorrência	05
II . 1 . b - Essencialidade e toxicidade.....	06
II . 1 . c - Importância.....	10
II . 2 - Métodos de Determinação de Selênio.....	11
II . 2 . 1 - Principais métodos espectroquímicos.....	11
II . 2 . 2 - Método de geração de hidretos.....	17
II . 2 . 2 . a - Princípio do método.....	17
II . 2 . 2 . b - Atomização e mecanismo de atomização de hidretos.....	20
II . 2 . 2 . c - Interferentes e mascarantes na técnica de geração de hidretos..	24
II . 3 - Pré-concentração em Fluxo.....	29
II . 3 . a - Características e modalidades da técnica de pré-concentração.....	29
II . 3 . b - Definições de termos utilizados na pré-concentração em fluxo.....	34

II . 3 . c - Dispersão em sistemas de pré-concentração em fluxo com colunas.....	37
II . 3 . d - Considerações práticas dos sistemas de pré-concentração em fluxo com colunas.....	40

CAPÍTULO II

Parte Experimental.....	44
III . 1 - Instrumentação.....	44
III . 2 - Sistema por Injeção em Fluxo.....	48
III . 3 - Preparação e Calibração do Atomizador.....	53
III . 4 - Reagentes e Padrões.....	53
III . 5 - Coluna de Troca Catiônica para Controle de Interferentes.....	54
III . 6 - Impregnação do Bismutiol I na Resina Aniônica.....	55
III . 7 - Coluna para a Pré-concentração.....	55
III . 8 - Estudo das Variáveis no Sistema de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto.....	55
III . 9 - Amostras.....	57

CAPÍTULO IV

Resultados e Discussões.....	61
IV . 1 - Testes Preliminares	61
IV . 2 - Otimização dos Parâmetros no Sistema de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto.....	64
IV . 2 . a - Efeito da bobina de reação.....	64
IV . 2 . b - Efeito do volume injetado.....	67
IV . 2 . c - Efeito da concentração de NaBH ₄	67

IV . 2 . d - Efeito de concentração de HCl.....	70
IV . 2 . e - Efeito de diferentes ácidos.....	70
IV . 2 . f - Efeito da altura do reator-separador.....	74
IV . 2 . g - Efeito do gás de arraste.....	74
IV . 2 . h - Efeito da vazão dos carregadores.....	77
IV . 2 . i - Efeito da temperatura de atomização.....	77
IV . 3 - Estudo de Interferentes e Mascaramentos.....	80
IV . 4 - Sistema para a Pré-concentração de Selênio.....	96
IV . 4 . a - Otimização do sistema de pré-concentração.....	96
IV . 4 . b - Otimização do sistema de pré-concentração para determinação de selênio em amostras de água de mar.....	117
IV . 5 - Curvas de Calibração, Precisão, Exatidão e Limite de Detecção.....	120
IV . 5 . 1 - Curvas de Calibração, Precisão e Limite de Detecção.....	120
IV . 5 . 2 - Exatidão do método.....	124
IV . 5 . 2 . a - Determinação de selênio em amostras de aço.....	124
IV . 5 . 2 . b - Determinação de selênio em amostras de urina.....	125
IV . 5 . 2 . c - Determinação de selênio em amostras de plantas.....	126
IV . 6 - Determinação de Selênio em Amostras Reais.....	129
IV . 6 . a - Determinação de selênio em amostras de medicamento.....	129
IV . 6 . b - Determinação de selênio em amostras de urina.....	129
IV . 6 . c - Determinação de selênio em amostras de água de mar.....	132

CAPÍTULO V

Conclusões e Propostas para a Continuidade do Trabalho.....	134
---	-----

CAPÍTULO VI

Referências Bibliográficas.....	138
---------------------------------	-----

CAPÍTULO VII

APÊNDICES.....	154
----------------	-----

A - Soluções de interferentes.....	154
------------------------------------	-----

B - Dados a respeito das amostras utilizadas.....	157
---	-----

C - Condições experimentais para o Forno de Grafite.....	159
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura II.1 - Reação de Se(IV) com 3,3'-diaminobenzidina.....	12
Figura II.2 - Bismutiol II.....	33
Figura II.3 - Sulfonato de Bismutiol II.....	34
Figura III.1 - Separador gás-líquido, tipo varredura.....	46
Figura III.2 - Atomizador eletrotérmico utilizado para a atomização do hidreto de selênio.....	47
Figura III.3 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para a determinação de selênio.....	50
Figura III.4 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para reduzir o efeito de interferentes na determinação de selênio.....	51
Figura III.5 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência e reamostragem utilizado para a pré-concentração e determinação de selênio.....	52
Figura IV.1 - Perfil de temperatura obtido com o atomizador de quartzo na presença da capa de alumínio.....	63
Figura IV.2 - Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de selênio.....	66
Figura IV.3 - Efeito do volume injetado na determinação de selênio.....	68
Figura IV.4 - Efeito da concentração de NaBH ₄ na determinação de selênio.....	69
Figura IV.5 - Efeito da concentração de HCl na determinação de selênio.....	72
Figura IV.6 - Efeito de diferentes ácidos na determinação de selênio.....	73
Figura IV.7 - Efeito da altura do reator-separador na determinação de selênio.....	75
Figura IV.8 - Efeito da vazão de nitrogênio na determinação de selênio.....	76

Figura IV.9 - Efeito da vazão dos carregadores na determinação de selênio.....	78
Figura IV.10 - Efeito da temperatura de atomização na determinação de selênio.....	79
Figura IV. 11 - Bismutiol I.....	98
Figura IV.12 - Efeito da concentração de Bismutiol I impregnado na resina Dowex 1X8 na pré-concentração de selênio.....	101
Figura IV.13 - Efeito da vazão na pré-concentração de selênio.....	104
Figura IV.14 - Efeito da concentração de tiouréia utilizada como eluente....	108
Figura IV.15 - Efeito da concentração de HCl como eluente auxiliar ao efeito da tiouréia 10%.....	109
Figura IV.16 - Efeito da concentração de HCl na pré-concentração de selênio.....	112
Figura IV.17 - Sinais transientes de calibração e determinação de selênio utilizando o sistema sem a etapa de pré-concentração.....	122
Figura IV.18 - Sinais transientes de calibração e determinação de selênio utilizando o sistema com a etapa de pré-concentração.....	122
Figura IV.19 - Curva de calibração para determinação de selênio utilizando o sistema com e sem a etapa de pré-concentração.....	123
Figura IV.20 - Monitoramento de selênio na urina de pacientes submetidos a uma dose única de medicamento contendo selênio.....	131

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela II.1 - Comparação de métodos Espectrométricos de Absorção Atômica	15
Tabela IV.1 - Fator de Interferência dos íons da fase líquida na determinação de selênio (30 ng/mL).....	82
Tabela IV.2 - Fator de interferência dos íons da fase líquida na determinação de selênio (90 ng/mL).....	83
Tabela IV.3 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa na determinação de selênio (30 ng/mL).....	85
Tabela IV.4 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa na determinação de selênio (90 ng/mL).....	86
Tabela IV.5 - (%) conversão de selênio utilizando coluna de resina e adicionando HCl em diferentes concentrações em linha.....	87
Tabela IV.6 - Fator de interferência dos íons interferentes da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica.....	87
Tabela IV.7 - Fator de interferência dos íons interferentes Ag (I) e Cr (III) utilizando coluna de resina de troca catiônica em diferentes concentrações de HCl.....	88

Tabela IV.8 - Fator de interferência da mistura de íons da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica.....	89
Tabela IV.9 - Fator de interferência da mistura dos íons Ni(II) e Cr(III) variando a quantidade de resina.....	90
Tabela IV.10 - Fator de interferência da mistura dos íons Cu(II), Ni(II), Cr(III), Zr(IV), Fe(III) e Ag(I) variando a quantidade de resina	90
Tabela IV.11 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa usando tiouréia como mascarante.....	92
Tabela IV.12 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa usando L-cisteína e tiosemicarbazida como mascarantes.....	93
Tabela IV.13 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa controlando a acidez do meio e utilizando tiouréia como mascarante auxiliar.....	94
Tabela IV.14 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa utilizando coquetel de mascarantes.....	96
Tabela IV.15 - Impregnação (%) de Bismutiol I na resina de troca aniônica (Dowex 1X8).....	99
Tabela IV.16 - Eluentes utilizados na pré-concentração de selênio.....	102
Tabela IV.17 - Efeito do tempo sobre a pré-concentração de selênio.....	105

Tabela IV.18 - Efeito do tempo e da vazão de eluição no sinal analítico observado na pré-concentração de selênio.....	107
Tabela IV.19 - Estudo de diferentes comprimentos de coluna de pré-concentração mantendo-se constante os seus diâmetros internos.....	111
Tabela IV.20 - Estimativa do tempo de uso da coluna de pré-concentração em relação ao número de amostras injetadas	114
Tabela IV.21 - Efeito da concentração de NaBH ₄ no sistema de pré-concentração de selênio.....	115
Tabela IV.22 - Efeito de alguns metais da fase líquida na pré-concentração de selênio.....	116
Tabela IV.23 - Efeito de alguns metais da fase gasosa na pré-concentração de selênio.....	117
Tabela IV.24 - Efeito da concentração de NaCl no sinal analítico observado na pré-concentração de selênio.....	120
Tabela IV.25 - Determinação de selênio em amostra de aço padrão certificado.....	125
Tabela IV.26 - Determinação de selênio em amostras de urina padrão certificado.....	125
Tabela IV.27 - Determinação de selênio em amostras de material referência de plantas.....	128
Tabela IV.28 - Determinação de selênio em amostras de medicamento.....	129

Tabela IV.29 - Determinação e recuperação de selênio em amostras de urina dopadas com selênio.....	130
Tabela IV.30 - Determinação de selênio em amostras de água de mar sintética dopadas com selênio.....	133
Tabela IV.31 - Determinação de selênio em amostras de água de mar real dopadas com selênio.....	133
Tabela IV.32 - Recuperação de selênio em água de mar sintética e real pelo método de adição padrão e pré-concentração de selênio.....	133
Tabela VII.1 - Valores certificados dos elementos constituintes em amostras de urina SRM 2670.....	157
Tabela VII.2 - Valores certificados dos elementos constituintes em amostra de aço NIST-SRM 361.....	118

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um método rápido e eficiente para a pré-concentração e determinação de selênio utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo (F.I.A.) e Geração de Hidreto mediante detecção por Espectrometria de Absorção Atômica (E.A.A.) em amostras de interesse ambiental, clínico e metalúrgico.

A configuração F.I.A. utilizada foi a de zonas coalescentes, onde a amostra e o agente redutor (NaBH_4) foram introduzidos, simultaneamente, em linhas contendo HCl e água, respectivamente. O hidreto de selênio gerado foi separado da fase líquida num reator-separador gás-líquido, usando N_2 como gás de arraste, sendo transportado ao atomizador eletrotérmico. As melhores condições determinadas, experimentalmente, foram com uma bobina de mistura de 20 cm, volume de injeção de amostra e NaBH_4 de 100 μL , HCl 1,0 mol/L e NaBH_4 0,4% (m/v), temperatura de atomização de 700⁰C, vazão dos carregadores e do gás de arraste, 1,5 mL/min e 150 mL/min, respectivamente.

O estudo de interferentes na fase líquida mostrou que os íons Fe(III) , Co(II) , Ni(II) , Ag(I) , Cr(III) , Cu(II) , Cd(II) e Zr(IV) provocaram uma alteração maior do que 10% no sinal de absorbância devido ao selênio. Para minimizar este efeito foi usado uma mini-coluna contendo 50 mg de resina de troca catiônica (Dowex 50W-X8) em linha. Quanto a interferência na fase gasosa, observou-se que a mesma ocorreu na presença de As(III) , As(V) , Sn(II) , Sn(IV) , Sb(III) , Sb(V) , Bi(III) , Hg(II) e Ge(IV) . Para superar estes efeitos foi utilizada tiouréia (1,0% m/v) como mascarante auxiliar ao efeito ácido.

Para a pré-concentração de selênio foi utilizado o reagente Bismutiol I suportado em resina de troca aniônica (Dowex IX8). Para isto foi utilizado uma mini-coluna ($\phi_j = 2$ mm, $h = 4,5$ cm) contendo 100 mg da resina/Bismutiol em linha. Após as etapas de pré-concentração e de eluição, a determinação de selênio foi feita utilizando o sistema de fluxo de reamostragem. Uma escolha adequada dos parâmetros operacionais tais como: vazão e tempo de pré-concentração, vazão e tempo de eluição, natureza e concentração do eluente e

tamanho da coluna foi necessária para se obter maior eficiência do processo de pré-concentração e maior sensibilidade.

Estabelecidas as condições ótimas para pré-concentração e determinação de selênio, o limite de detecção calculado, a partir do desvio padrão do branco, considerando-se a razão sinal-ruído igual a três, foi de 30 pg/mL, correspondente, em massa, a 3 pg de selênio. Considerando o tempo gasto na etapa de pré-concentração e de eluição, foi obtida uma frequência analítica de 26 determinações por hora com uma precisão, dada pelo desvio padrão relativo, de 2,5% (50 ng/mL de selênio). Para a metodologia desenvolvida para a determinação de selênio sem a etapa de pré-concentração, o limite de detecção foi de 300 pg/mL, correspondente, em massa a 30 pg selênio e a frequência analítica foi de 140 determinações por hora.

O método desenvolvido mostrou-se satisfatório para a pré-concentração e determinação de selênio em amostras de urina, aço, plantas e medicamentos.

ABSTRACT

A method was developed for the preconcentration and determination of selenium by Atomic Absorption Spectrometry - Hydride Generation in Flow Injection Analysis (FIA).

The flow injection system was operated in the merging zones configuration, where sample and reagent are simultaneously injected into two carrier streams, HCl and H₂O, respectively. For separation of selenium hydride a continuous gas-liquid separator was designed. The liquid phase flows to a free-running drain while the gaseous phase is purged by nitrogen into the atomization cell.

The optimum conditions for the generation of selenium hydride were established as: reaction coil of 20 cm, sample and reagent injected volume of 100 μ L, 0,4% (m/v) solution of sodium tetrahydroborate and 1,0 mol/L hydrochloric acid, cell temperature of 700⁰C, flow rates of 1.5 mL/min for hydrochloric acid and tetrahydroborate solutions and a flow rate of 150 mL/min for the carrier gas (N₂).

Many elements cause interferences in this technique in both phases (gaseous and condensed phases). It was found that Fe(III), Co(II), Ni(II), Ag(I), Cr(III), Cu(II), Cd(II), Zr(IV) caused signal reductions for selenium of at least 10%. The interferences were reduced by using an on-line mini-column with 50 mg of the cation exchange resin Dowex 50W-X8. The interferences in the gaseous phase were caused by As(III), As(V), Sn(II), Sn(IV), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Hg(II), Ge(IV), and Te(VI). To overcome these effects, thiourea was used as an auxiliary masking agent for the acid effect.

A method was developed for on-line preconcentration of selenium using a mini-column ($\phi_1=2$ mm, $h= 4,5$ cm) containing anion exchange resin loaded with Bismuthiol I. Optimal operation parameters are: flow rate and time of preconcentration, flow rate and time of elution, nature and concentration of eluent and size of column necessary for better efficiency and sensitivity.

Under the optimum experimental conditions for the preconcentration, the detection limit, defined as three times the standard deviation of the blank

measurement, was found to be 30 pg/mL, corresponding 3 pg of selenium. The methodology allows a sampling frequency of about 26 determinations per hour with a precision of about 2.5 % (50 ng/mL selenium). For the determination of selenium without the preconcentration step, the detection limit was 300 pg/mL, corresponding to 30 pg of selenium and a sampling rate of about 140 determinations per hour.

The method was shown to be satisfactory for preconcentration and determination of traces selenium in urine, plants, steel and medicament samples.

I - Introdução

A crescente necessidade de análises químicas tem exigido da Química Analítica o desenvolvimento de métodos de análises rápidos, exatos e precisos. Tal exigência tornou-se relevante para amostras complexas, ainda mais quando a espécie analítica de interesse se encontra em níveis muito baixos de concentração no material de análise, o que geralmente implica no uso de métodos instrumentais.

O desenvolvimento nos instrumentos de análise, nos dias atuais, possibilitou a obtenção de um número considerável de informações de uma mesma amostra e tal fato, somado ao crescente número de análises, a diversidade das amostras e a necessidade de resultados rápidos contribuíram para a automatização dos instrumentos de análise.

Dentro deste contexto, a automatização dos instrumentos de análise vem se tornando uma prática usual nos laboratórios de análises e seu desenvolvimento vem sendo cada vez maior com a utilização de computadores. A automatização dos procedimentos analíticos tem-se mostrado como solução adequada para fazer frente ao grande número de resultados requeridos, sem perda de confiabilidade e de forma economicamente viável.

No entanto, o grande desafio da análise química ainda persiste para a maioria dos químicos analíticos onde estes se deparam frequentemente com a determinação de elementos presentes em pequenas quantidades em matrizes cada vez mais complexas. Os métodos instrumentais analíticos nem sempre apresentam sensibilidade e seletividade para detectar diretamente íons a níveis muito baixos de concentração, havendo necessidade de combinar procedimentos analíticos com uma instrumentação eficiente, mediante o uso de métodos adequados caracterizados por boa precisão, exatidão e simplicidade operacional.

Para a determinação de elementos traço^(*) em matrizes complexas, geralmente são necessárias etapas de pré-tratamento da amostra, as quais envolvem separações manuais como extração, sorção, destilação, precipitação

^(*) traço : a definição de traço implica em concentrações menores que 1mg/L (1).

e diálise, assim como etapas de pré-concentração para a espécie analítica de interesse a fim de melhorar o limite de detecção do método de análise. Estes procedimentos de separação e pré-concentração manuais são bastantes demorados, consomem grandes quantidades de amostras e de reagentes e envolvem várias etapas as quais podem induzir riscos de contaminação, particularmente na determinação de elementos traço.

As primeiras tentativas para automatizar o tratamento de amostras foram feitas através da mecanização e da simulação das operações dos métodos manuais. Os analisadores utilizados para estas propostas eram de alto custo e não suficientemente eficientes para grandes aceitaçãoes em laboratórios de rotina.

Uma importante inovação para automatização no laboratório foi a introdução dos analisadores de fluxo contínuo proposto por Skeggs ⁽²⁾ em 1957. Dentre os analisadores de fluxo contínuo, os AutoAnalyzers, introduzidos pela Technicon Instrument Co., foram os analisadores mais aceitos para automatização de análise antes do surgimento da técnica de Análise por Injeção em Fluxo (F.I.A.)^(*).

A técnica F.I.A., introduzida em 1975, por Ruzicka e Hansen ⁽³⁾, teve grande repercussão na comunidade científica, principalmente na década passada. Uma grande parte deste avanço se deve os trabalhos desenvolvidos por pesquisadores do Centro de Energia Nuclear para Agricultura - CENA / USP / Piracicaba - Brasil. Originalmente considerada como uma técnica para automatização dos ensaios seriais, atualmente, a técnica de injeção em fluxo pode ser considerada como uma importante técnica para substituir os procedimentos manuais de separação pela forte ligação entre a química e a instrumentação analítica.

De fato, os processos de separação em linha foram incorporados nos sistemas de fluxo nos periodos iniciais do desenvolvimento da técnica utilizando separações por diálise, extração por solvente, difusão gasosa, troca iônica e deposição eletroquímica. No entanto, estes procedimentos têm adquirido novos direcionamentos e constituem agora o campo mais

^(*) do inglês : Flow Injection Analysis.

interessante da análise em fluxo revolucionando as operações convencionais na análise química.

Em sistemas F.I.A., a amostra é introduzida em um fluido carregador contínuo, podendo ser quimicamente inerte, o que ocasiona uma zona de amostra bem definida e reproduzível. Esta zona de amostra, ao ser conduzida em direção ao detector, sofre um processo contínuo de dispersão, o que é causado pela transferência de massa e mistura durante o transporte da amostra ao detector. No desenvolvimento destas etapas, são utilizados vários procedimentos em linha, a fim de melhorar a seletividade e particularmente o baixo limite de detecção, onde interferentes em potencial podem estar presentes em concentrações mais elevadas do que o íon de interesse ⁽⁴⁾.

O desenvolvimento de técnicas de separação e pré-concentração em fluxo possibilita o tratamento de amostras em linha e constitui uma alternativa eficiente para a determinação de elementos traço ⁽⁴⁾. As vantagens das técnicas de separação e de pré-concentração em fluxo são várias como: alta eficiência de pré-concentração, baixo consumo de amostra e de reagente, simplicidade de operação em linha e menor risco de contaminação.

✦ Em se tratando da determinação de elementos traço, a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos é uma técnica muito útil, sendo aplicada na determinação dos elementos As, Bi, Ge, Pb, Sn, Sb, Sc, Te e Ge em grande variedade de matrizes. Sua popularidade se deve as seguintes vantagens: separação da espécie analítica da matriz, alta eficiência na introdução da amostra resultando em boa sensibilidade e fácil automatização. Estas vantagens quando associadas àquelas apresentadas pelas técnicas de separação e de pré-concentração em linha são de grande interesse para o desenvolvimento de novos métodos analíticos.

Dentre os elementos que são determinados pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica por Geração de Hidretos, o selênio é um dos elementos que, nos últimos anos, apresentou grande interesse para o desenvolvimento de novos métodos para a sua determinação ⁽⁵⁾. O selênio é um elemento cujas propriedades são essenciais e tóxicas ao homem, portanto de amplo interesse ambiental e clínico. O pequeno intervalo de concentração entre o nível essencial e o toxicológico impõe a necessidade do

desenvolvimento de métodos para a determinação exata de baixos níveis deste elemento.

O objetivo deste trabalho é desenvolver um método rápido e eficiente para a pré-concentração e determinação de selênio utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto mediante detecção por Espectrometria de Absorção Atômica em amostras de interesse ambiental, clínico e metalúrgico.

Para o desenvolvimento da metodologia proposta, primeiramente, foram estudados os parâmetros que influenciam a sensibilidade e a reprodutibilidade do sinal analítico buscando, experimentalmente, as melhores condições do método para o selênio utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto.

Posteriormente, ao método otimizado, foi realizado um estudo avaliando os possíveis elementos que interferem na resposta do sinal analítico para a determinação de selênio. Em continuidade a esta etapa, foi realizada uma tentativa de eliminar ou pelo menos minimizar o efeito de interferência destes elementos para o método proposto. Para isto foi utilizado o procedimento por extração com resina de troca catiônica (Dowex 50W-X8) em linha como meio de separar os elementos interferentes daqueles que formam hidretos. Foram avaliadas as melhores condições para a retenção dos metais interferentes na resina, bem como a conversão da espécie analítica neste meio. Para superar o efeito dos elementos interferentes da fase gasosa foi proposto um procedimento que utiliza agentes mascarantes em linha.

Tendo como objetivo melhorar o limite de detecção, foi proposto um sistema para pré-concentração do selênio utilizando o reagente Bismutiol I (2,5-dimercapto-1,3,4-tiodiazol) suportado em resina aniônica (Dowex IX8). As melhores condições foram estudadas, visando a determinação de selênio em amostras (de urina, plantas, aço e medicamentos), onde o nível encontrado deste elemento está na ordem de traços.

No desenvolvimento de todas as etapas da metodologia proposta, considerou-se sensibilidade, seletividade, rapidez e simplicidade operacional. Assim, os seguintes parágrafos mostram a potencialidade e a avaliação da metodologia proposta aos objetivos do trabalho.

II - Revisão Bibliográfica

II . 1 - O Selênio

II . 1 . a - Histórico e Ocorrência

O selênio foi descoberto no século XIV por Arnold Villanova ⁽⁶⁾. Ele observou que durante um procedimento para a vaporização do enxofre havia a presença de um precipitado vermelho, o qual ele denominou de enxofre vermelho. Mas, somente em 1817 o selênio foi isolado e identificado por J.J. Berzelius. Este elemento recebeu o nome de selênio, que significa lua, por causa de suas propriedades similares com o telúrio, descoberto em 1782, o qual significa terra.

Desde a descoberta e a identificação do selênio por Berzelius são vários os minerais (berzeliamita, eucairita e mais outros 40 minerais) que foram identificados como sendo minerais ricos em selênio. A indicação da ocorrência de selênio é comprovada pela análise química de minerais contendo enxofre. A associação entre o selênio e o enxofre em rochas ígneas ocorreu durante o período de cristalização do magma ⁽⁷⁾.

A determinação química de selênio em meteoritos tem mostrado grande variação do conteúdo de selênio nestes tipos de amostras geológicas. Em meteoritos férricos, como Bohumilitz, Bohemia ⁽⁶⁾, foi encontrado o teor de 0.23% de selênio. Estes dados indicam a grande quantidade deste elemento presente no universo. A associação do selênio e do enxofre em rochas ígneas e a presença deste elemento em vapores vulcânicos tem despertado grande interesse para a área geoquímica. Embora a composição química do selênio em gases vulcânicos não seja bem determinada, o estudo das constantes de equilíbrios para as reações envolvendo Se, SeO₂, SO₃, H₂ e H₂O às temperaturas de 150⁰C a 300⁰C mostram que o selênio está presente nos vapores vulcânicos como selênio elementar gasoso na forma de Se₂ e Se₆ ⁽⁶⁾.

De maneira geral, o selênio está distribuído na crosta terrestre em pequenas quantidades ⁽⁸⁾, na ordem de $7 \times 10^{-5}\%$.

A ocorrência de selênio em solos seleníferos (solos ricos em selênio) é um fato de considerável interesse devido ao seu efeito tóxico em animais que se alimentam de plantas as quais podem acumular este elemento quando cultivadas nestes solos. De acordo com alguns estudos ⁽⁷⁾, a presença de selênio nos solos é resultado da desintegração de rochas ígneas e da intensa atividade vulcânica. As formas químicas do selênio presentes nos solos são selenitos, selenatos, selênio elementar e selênio associado com a pirita (Fe_2O_3) e outros minerais ⁽⁹⁾. O selênio é encontrado em solos dos Estados Unidos, Austrália, Canadá, Colômbia, Israel, México, Irlanda e África do Sul. As análises de amostras de solos da Irlanda mostram que o conteúdo de selênio chega a 1200 mg/Kg.

A presença de selênio em plantas nas regiões oeste e sudoeste dos Estados Unidos tem sido objeto de estudos por vários pesquisadores. Os estudos ⁽⁹⁾ mostram que existem 24 espécies e variedades de plantas do gênero *Astragalus* as quais crescem em solos seleníferos. Para estas plantas, o selênio é um nutriente essencial. A forma química pela qual o selênio é disponível para estas plantas é variável. Os selenatos são mais absorvidos do que selenitos e o selenato de cálcio é mais absorvido que o selenato de sódio ^(9,10). Estas plantas apresentam o odor desagradável devido a compostos voláteis de selênio, incluindo o dimetildisseleneto ⁽⁹⁾.

II . 1 . b - Essencialidade e Toxicidade

O selênio é um elemento de considerável interesse devido o seu potencial de toxicidade. Por outro lado, há evidências de que o selênio em baixas concentrações seja um elemento essencial para as funções biológicas normais ⁽¹¹⁾.

Várias pesquisas são feitas avaliando a toxicidade do selênio em ambientes aquáticos ⁽¹²⁾. Os dados mostram que a faixa de concentração de selênio entre o nível essencial e o toxicológico é muito estreita, especialmente em águas naturais. Wang et al. ⁽¹³⁾ descreveram que para o desenvolvimento da biomassa, a concentração de selênio (na forma de selenito) de 50 ng/mL é

importante para o crescimento de algas. Por outro lado, a concentração de 3000 ng/ml. de selenito na água de mar diminui a reprodução de protozoários (13). A disponibilidade do selênio para os organismos vivos depende das suas formas químicas presentes no ambiente aquático. O conhecimento das espécies químicas e das quantidades de selênio em águas naturais é de grande interesse a fim de entender melhor os processos biológicos e geoquímicos do selênio. A concentração de selênio em águas naturais é baixa (13), estando na ordem de 60-70 ng/mL.

Vários estudos são feitos com o objetivo de mostrar a importância do selênio para prevenir doenças causadas pela deficiência da Vitamina E. Sendo um nutriente essencial para os animais, o efeito do selênio está diretamente relacionado com a assimilação da vitamina E. Os efeitos benéficos de traços de selênio são conhecidos desde 1957 quando Schwarz e Foltz mostraram que o selênio evita a necrose do fígado em ratos deficientes em vitamina E (14). Estas pesquisas mostram que o fornecimento de selênio na ração animal em áreas de baixo índice de selênio diminui o nível de doenças causadas pela deficiência deste elemento em animais domésticos. No entanto, o suprimento de selênio nos alimentos é questionado por autoridades públicas devido às suas propriedades carcinogênicas e ao efeito tóxico (15). Embora, as propriedades carcinogênicas do selênio sejam questionadas, estudos recentes comprovam o efeito anti-carcinogênico do selênio (16).

Por outro lado, o selênio quando presente em concentrações maiores do que aquelas permitidas pelo nível essencial é considerado um elemento tóxico e o seu potencial de toxicidade é maior que o do arsênio (17).

O nível de selênio considerado tóxico para os animais é de 4 mg/Kg (17, 18). Mas, foi observado o efeito tóxico de 1,25 mg/Kg de selênio na dieta de ratos deficientes em vitamina E (17). Os animais com dieta de selênio podem acumular 2 a 9 mg/Kg de selênio no fígado e 10 a 30 mg/Kg nos rins, indicando que a adição de selênio na cadeia alimentar deve ser feita com cautela.

As fontes responsáveis pela toxicidade de selênio são os locais de trabalho em indústrias que utilizam o selênio na manufatura de produtos

industriais , plantas cultivadas em solos seleníferos e animais que delas se alimentam, a poluição da água e atmosférica. O efeito do selênio como um poluente atmosférico foi questionado por Hashimoto e Winchester os quais mostraram que a razão selênio/enxofre no ar é maior que a razão selênio/enxofre na água de mar⁽¹⁹⁾ . Eles concluíram que o uso do selênio contribui muito para a poluição atmosférica. Os riscos causados pela exposição do selênio exigem que as autoridades dos setores industriais , agrícolas e da saúde pública estejam alertas com os vários problemas causados por este elemento.

O alto índice de selênio no solo representa um sério problema na agricultura desde que certas plantas nativas nestes solos podem acumular grandes quantidades de selênio (± 1000 mg/kg). Alguns animais domésticos ingerindo estas forrageiras desenvolvem a “doença alcalina” ou “cegueira vacilante” que são duas diferentes formas de envenamento crônico causado pelo selênio ⁽⁶⁾. O risco da presença de selênio nestes tipos de solos permanece ainda como uma ameaça à população mundial desde que a composição do solo de alguns países, com respeito ao conteúdo de selênio, seja ainda desconhecida.

Os problemas causados pelo selênio em várias pessoas que vivem em regiões de solos seleníferos são resultados do consumo de alimentos cultivados nestas regiões . A perda de cabelo e de unhas, erupções na pele, edema subcutâneo, artrite crônica e irritabilidade são alguns dos sintomas mais comuns decorrentes da selenose ^(20, 21).

Desde que a exposição do selênio representa um perigo para o homem, existe a necessidade de entender melhor o mecanismo de ação dos vários fatores que modificam a toxicidade do selênio.

Uma das peculiaridades deste elemento é o fato que seu efeito tóxico pode ser diminuído na presença do arsênio. O efeito do arsênio no selênio pode ser observado pelo suprimento de 5 mg/L de arsenito de sódio em ratos submetidos a dietas de 15 mg/l. de selênio na forma de selenito de sódio ⁽¹⁷⁾. Neste caso, foi observado que os danos causados, em fígado de ratos, foram diminuídos pelo suprimento de arsênio na forma de arsenito de sódio presente

em águas potáveis. O antagonismo do arsênio e do selênio no metabolismo animal é complicado devido o fato que o arsênio inibe a ação de compostos de selênio metilados voláteis. O arsênio diminui a retenção do selênio no fígado enquanto, simultaneamente, diminui a eliminação do selênio via rota de volatilização (17).

Experimentos com arsênio radioativo mostram que o selênio aumenta a excreção biliar do arsênio, assim como o arsênio aumenta a excreção biliar do selênio. Isto sugere que o arsênio deve formar um composto conjugado com o selênio o qual é preferencialmente eliminado via rota biliar. O antagonismo arsênio - selênio é entendido em termos fisiológicos, no entanto, um mecanismo químico preciso da ação do arsênio permanece desconhecido. É possível que o arsênio aumente a permeabilidade do selênio no fígado (17).

Existe uma interação entre os compostos de selênio e certos metais no metabolismo animal. Alguns compostos de selênio são eficientes para proteger o organismo do efeito tóxico de certos metais que estariam fora das condições normais permitidas pelo organismo do homem (17), como por exemplo, o cádmio e outros metais do grupo IIB da tabela periódica, particularmente o mercúrio. Esta interação é considerada como uma nova alternativa em utilizar o selênio no tratamento terapêutico ou até mesmo prevenir o efeito destes metais (18). O uso do selênio como tratamento terapêutico ao efeito de alguns metais constitui uma etapa importante para melhor entender o controle biológico do selênio como um nutriente essencial. Neste caso, é importante verificar não somente a quantidade de selênio presente nos materiais biológicos, mas também distinguir as diferentes formas químicas as quais podem ser encontradas.

Em alguns experimentos com compostos de selênio no organismo animal foram observados que pequenas quantidades de selenito de sódio evita a necrose hemorrágica das glândulas mamárias causada pelo cádmio (22, 23). O cádmio e o mercúrio têm efeitos similares no metabolismo do selênio, portanto, os compostos de selênio afetam a toxicidade destes metais de maneira similar. O efeito do selenito de sódio não estaria relacionado com maior excreção do mercúrio, mas ao contrário, há um decréscimo do nível de

mercúrio eliminado pela urina. A administração de compostos de selênio muda não somente a distribuição orgânica⁽¹⁷⁾ destes metais, mas suas reatividades. Outros estudos seriam necessários a fim de mostrar exatamente a natureza das reações químicas envolvidas nestes processos, a priori, não seria o caso de considerar o selênio como um nutriente essencial. Os estudos da relação entre o mercúrio e alguns compostos de selênio são de considerável importância para o estudo do meio ambiente, pois a poluição causada pelo mercúrio é um grande problema mundial. O estudo da relação selênio/mercúrio e selênio/outros metais é de interesse não somente para os problemas teóricos relacionados a função e a toxicidade do selênio, mas também em relação aos problemas práticos no meio ambiente e na patologia humana.

II . 1 . c - Importância

O selênio tem grandes aplicações devido às suas propriedades físicas, químicas e eletrônicas⁽⁶⁾. A principal aplicação do selênio é nas indústrias de vidros, pigmentos, aço, xerografia e retificadores. A propriedade fotocondutora do selênio é importante no desenvolvimento de fotocélulas⁽⁶⁾.

A sua grande aplicação é nos processos de fotocópias de xerografia. Estes processos são baseados na reprodução de imagens induzidas pela perda de luz de um filme amorfo de selênio⁽⁶⁾.

As propriedades físicas do selênio têm sido usadas em retificadores. A principal vantagem do uso de selênio em retificadores é o seu baixo custo⁽⁶⁾.

Durante a Primeira Guerra Mundial, o selênio foi usado, ao invés do MgO, para colorir vidros. Os pigmentos sulfosselenetos de cádmio são muito usados. Estes pigmentos são melhores que os pigmentos orgânicos vermelhos. Os pigmentos de selênio são usados em diversos materiais incluindo tintas, esmaltes, plásticos, vidros, cerâmicas e borrachas⁽⁶⁾.

As aplicações do selênio na indústria metalúrgica são feitas pela adição de selênio, usualmente na forma de selenito férrico para melhorar a qualidade mecânica de aços. A adição de selenato de sódio em processos de chapeamento, notavelmente nos processos de cromação, aumenta a resistência

das ligas metálicas à corrosão e diminui a clivagem. Alguns selenetos de metais refratários como MoSe₂, NbSe₂ e WSe₂ são eficientes como lubrificantes sólidos estáveis a altas temperaturas no vácuo ⁽⁶⁾.

A suspensão do dissulfeto de selênio é usada para combater a seborréia do couro cabeludo ⁽⁶⁾.

A adição do selenato de sódio em plantas é usada para proteger certas plantas cultivadas em estufas, como o cravo, contra o ataque de pragas ⁽⁶⁾.

Numerosas reações orgânicas como reações de oxidação, hidrogenação, isomerização e polimerização são catalizadas pelo selênio e seus compostos de dióxido de selênio. O selênio é usado industrialmente na catálise, na oxidação em fase líquida e na isomerização de óleos insaturados. Os compostos de selênio são usados como anti-oxidantes para óleos lubrificantes ⁽⁶⁾.

II . 2 - Métodos de Determinação de Selênio

II . 2 . 1 - Principais métodos espectroquímicos

O pequeno intervalo de concentração entre o nível essencial e o toxicológico impõe a necessidade do desenvolvimento de métodos para a determinação exata de baixos níveis de selênio.

Existem vários métodos instrumentais para a determinação de selênio em diferentes matrizes. As técnicas eletroanalíticas não são aplicadas, com frequência, na determinação de selênio devido às suas limitações. Os métodos espectroquímicos são os mais utilizados ⁽⁵⁾. Os principais métodos são: Espectrometria de Fluorescência Molecular, Análise por Ativação de Neutrons, Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos em sistemas discretos e em sistemas em fluxo, Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado com Geração de Hidretos e

Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado com Geração de Hidretos^(*).

Uma avaliação dos principais métodos instrumentais para a determinação de selênio pode ser feita de acordo com a sensibilidade, a linearidade da curva de calibração, o limite de detecção, a reprodutibilidade (dada pelo desvio padrão relativo), o tempo de análise e a presença de interferentes⁽⁵⁾. A escolha de um destes métodos dependerá dos objetivos propostos da análise, assim como do tratamento prévio da amostra.

Um dos métodos sensíveis para a determinação de selênio é dado pela reação de Se(IV) com 3,3'-diaminobenzidina em pH 2,5, esquematizada a seguir⁽²⁴⁾:

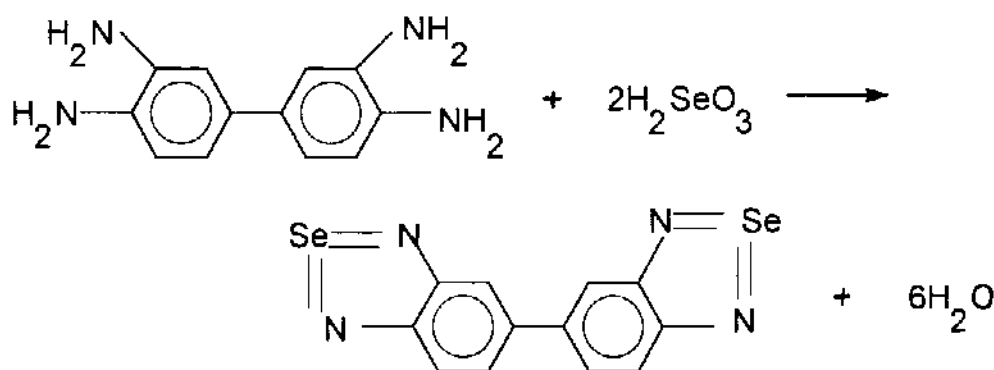


Figura II.1 - Reação do Se(IV) com 3,3'-diaminobenzidina.

O composto amarelo formado, difenilpiazoselenol, pode ser extraído com tolueno em pH > 5. Uma característica importante do método com diaminobenzidina é a forte fluorescência do difenilpiazoselenol em $\lambda=580$ nm que possibilita a determinação de quantidades traços de selênio.

Outros reagentes como 2,3-diaminonaftaleno e 4,5-diamino-6-tiopiridina são também usados para formar piazoselenóis com Se(IV). A 3,3'-

^(*) devido a linguagem cotidiana para a maioria dos químicos, algumas siglas serão utilizadas diretamente a partir da definição da língua inglesa, como exemplo: ICP Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês. Inductively Coupled Plasma.

diaminobenzidina é menos sensível que 2,3-diaminonaftaleno e apresenta um branco alto. A solução contendo o difenilpiazoselenol deve ser neutralizada antes que o complexo seja quantitativamente extraído da fase orgânica (25).

O reagente, 4,5-diamino-6-tiopiridina, pode ser usado para determinar Se(IV) diretamente em solução aquosa a pH 1,5 a 2,5. A determinação é feita em $\lambda=380$ nm ou em $\lambda=410$ nm onde a absorvância do branco é pequena. Os reagentes que formam piazoselenóis estão sujeitos a oxidação pelo oxigênio do ar (25).

O método Espectrofotométrico de Fluorescência Molecular que utiliza a reação do 2,3-diaminonaftaleno (DAN) com Se(IV) para a formação do complexo de piazoselenol está limitado a erros devido ao decaimento fotossensível do complexo 2,3-diaminonaftaleno-Se(IV) o qual induz a perdas de selênio.

Haygarth et al. (5) observaram que uma solução de 500 ng do complexo DAN-Se(IV) em 20 mL de cicloexano diminui a concentração de Se(IV) de 3% por semana devido a perdas por fotólise depois de expor o frasco contendo o complexo DAN-Se(IV) à ação da luz.

O selênio pode ser determinado como piazoselenol por Cromatografia Gasosa com detecção por captura de elétrons (26). Al-Attar et al. (27) investigaram a possibilidade de utilizar reagentes mais sensíveis para a determinação de selênio. Eles utilizaram 3-bromo-5-trifluorometil-1,2-diaminobenzeno para determinação de selênio em amostras de plantas por Cromatografia Gasosa com detecção por captura de elétrons. O limite de detecção encontrado para o método foi de 2,2 ng Se/mL, correspondente a quantidade mínima detectável de 5 pg de selênio.

A introdução da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica não ofereceu de início um método adequado para o selênio. A emissão das lâmpadas de cátodo oco, usadas como fontes de radiação, não são suficientemente intensas e na linha mais sensível, 196 nm, ocorre forte absorção pelos componentes da chama ar-acetileno. A chama de argônio-hidrogênio, mais transparente, foi proposta mas nela, por causa da temperatura

mais baixa, ocorre a dissociação incompleta dos sais e absorção molecular (28).

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica é uma alternativa à chama. O uso de atomizadores eletrotérmicos em determinações de elementos onde as linhas analíticas ótimas estão na região do ultra-violeta distante é problemático. O espalhamento de luz por material particulado, a interferência de matriz e a absorção molecular são fatores críticos.

Para elementos voláteis como o selênio é necessário o uso de modificadores químicos a fim de reduzir a perda da espécie analítica durante as etapas de aquecimento. Uma alternativa para contornar estes problemas é converter os elementos (Sb, As, Bi, Ge, Pb, Se, Te e Sn) em hidretos voláteis e, então, separá-los da matriz e determiná-los por Espectrometria de Absorção Atômica.

As principais características da técnica Espectrométrica de Absorção Atômica por Chama, com atomização eletrotérmica e com geração de hidretos são mostradas na Tabela II.1.

Tabela II.1 - Comparação de Métodos Espectrométricos de Absorção Atômica⁽²⁹⁾.

	chama	eletrotérmica	geração de hidretos
sinal	estado estacionário	transiente	transiente ou estado estacionário
frequência analítica (amostras/min)	≥ 4	0,5	≥ 2
introdução da amostra	aspiração	amostrador automático	hidreto gasoso
sensibilidade	mg/L	µg/L	µg/L
absorção de fundo	baixa	alta	baixa
precisão	≤ 1% (d.p.r.)*	≤ 10% (d.p.r.)*	≤ 5% (d.p.r.)*
matriz	líquido	líquido, sólido	líquido

* d.p.r.: desvio padrão relativo.

A maioria dos problemas associados aos métodos Espectrométricos de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (EAA-GH) são os efeitos de interferências de alguns elementos os quais reduzem bastante o sinal analítico. O método de Geração de Hidretos é altamente dependente da geometria do sistema de Geração de Hidretos e isto afeta diretamente no limite de detecção. Para o método EAA-GH discreto, o transporte do hidreto é um fator crítico. Neste caso, os sistemas em fluxo são superiores e mais versáteis do que os métodos discretos⁽³⁰⁾.

A Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado tem ganhado grande popularidade nas últimas décadas devido à capacidade de determinar quantidades traços de elementos. As vantagens oferecidas por esta técnica são: o baixo limite de detecção e a determinação multielementar.

Buckley et al. (31) combinaram a geração contínua de hidreto com a técnica de Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado. Este método tem a vantagem de determinar elementos que formam hidretos e elementos que não formam hidretos simultaneamente. No entanto, o hidrogênio molecular o qual é formado como sub-produto na reação de decomposição é também introduzido no plasma. A presença de hidrogênio no plasma altera a eficiência de ionização e a estabilidade do plasma.

A Geração de Hidretos aliada à técnica de Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Acoplado é um método menos sujeito a problemas. O limite de detecção é similar ao método de Espectrometria de Fluorescência Molecular (0,40 ng/mL). O método Espectrométrico de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Acoplado é muito usado em laboratórios de análises devido à sua capacidade multi-elementar. Mas, no sistema de geração de hidretos, não é possível determinar outros elementos simultaneamente, e portanto as vantagens apresentadas por um sistema multi-elementar não são utilizadas (5).

Para a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, a técnica de geração de hidretos é ideal para a introdução de amostras. Este método apresenta o limite de detecção muito baixo (0,03 ng/mL). Embora a técnica de Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado apresente 100% de ionização para 70% dos elementos, somente 10 % do selênio é ionizado (5). Uma desvantagem do método é que o plasma de argônio sofre grande interferência, especialmente com cloreto usado na abertura de amostras. No entanto, a interferência do ^{40}Ar e ^{37}Cl no ^{77}Se é eliminada por remoção do cloreto do plasma com um separador de membrana gás-líquido no processo de Geração de Hidretos.

O método de Análise por Ativação com Neutrons é usado para determinação de selênio, especialmente em matrizes biológicas (5). Existem somente 3 radionuclídeos produzidos pela irradiação térmica de neutrons com interesse analítico. São ^{75}Se ($^{74}\text{Se}(n,\gamma)^{75}\text{Se}$, $t_{1/2}=120$ dias), ^{77m}Se ($^{76}\text{Se}(n,\gamma)^{77m}\text{Se}$, $t_{1/2}=17,5$ segundos) e ^{81}Se ($^{80}\text{Se}(n,\gamma)^{81}\text{Se}$, $t_{1/2}=18,6$ minutos). O pequeno tempo de meia vida do ^{77m}Se obriga a

determinação rápida de selênio. Infelizmente a presença de ^{19}O ($t_{1/2} = 29$ segundos) limita a exatidão e a sensibilidade da determinação do selênio. O método de Análise por Ativação com Neutrons tem baixo limite de detecção ($0,5 \mu\text{g/g}$) permitindo a determinação de selênio em amostras sólidas com grande precisão. Muitas espécies interferentes podem ser removidas pela separação radioquímica, bem como a contaminação dos reagentes pode ser reduzida durante a separação radioquímica. No entanto, o tempo de análise é grande. Outra desvantagem do método é o seu alto custo e as condições especiais necessárias de trabalho.

II . 2 . 2 - Método de geração de hidretos

II . 2 . 2 . a - Princípio do método

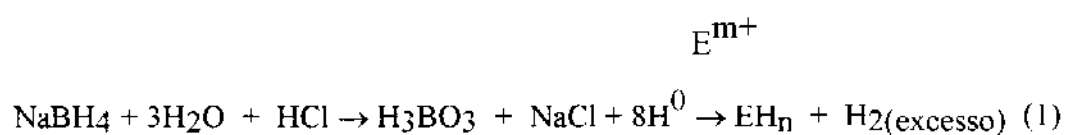
Um dos métodos mais usados para a determinação de selênio é o método Espectrométrico de Absorção Atômica com atomizadores eletrotérmicos aliada à técnica de Geração de Hidretos.

A Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos é um método aplicado para a determinação de elementos traço em grandes variedades de matrizes. Sua popularidade se deve as seguintes vantagens: separação da espécie analítica da matriz, alta eficiência na introdução de amostra resultando em boa sensibilidade e fácil automatização. A Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos foi introduzida por volta de 1970 devido aos problemas associados com as determinações de As⁽³²⁾ e Se por EAA por chama. Desde então as determinações são estendidas aos elementos As, Bi, Ge, Pb, Sn, Sb, Te e Se⁽³³⁾.

A técnica de geração de hidretos baseia-se na conversão da espécie de interesse em hidreto covalente gasoso que, por meio de um gás de arraste, é transportado à cela de atomização, para dissociação térmica em seus átomos. As etapas do sistema de geração de hidretos, com subsequente detecção por EAA são ⁽³²⁾ :

- geração do hidreto.
- coleta do hidreto (se necessário).
- transporte do hidreto e
- atomização do hidreto.

Para obter maior sensibilidade é necessário gerar o hidreto rapidamente ou coletá-lo e, então, transferi-lo tão rapidamente quanto possível para o atomizador. Isto diminui a diluição do hidreto no gás de arraste. Vários reagentes são usados para converter a espécie analítica em seu hidreto. Os primeiros trabalhos utilizaram um sistema de redução metal - ácido, como SnCl₂ - HCl - KI - Zn e TiCl₃ - HCl - Mg ⁽²⁹⁾. No entanto, o sistema mais usado é a redução utilizando borohidreto de sódio (NaBH₄) em meio ácido. A redução se dá de acordo com a equação (1):



onde E é a espécie analítica de interesse e m pode ser igual a n.

A solução de NaBH₄ é mais eficiente e é preferível principalmente nos sistemas de fluxo contínuo. A concentração de NaBH₄ depende da espécie analítica em particular e do sistema de geração de hidretos. Os trabalhos na literatura recomendam o uso da solução de NaBH₄ na faixa de 0,5 - 10 % em solução aquosa estabilizada por 0,1 - 2% de KOH ou NaOH ⁽²⁹⁾. No sistema NaBH₄ - ácido, o HCl é o mais usado, embora H₂SO₄ e HNO₃ possam ser usados. A acidez depende do elemento de interesse e do tipo de gerador do hidreto. Alguns ácidos orgânicos como tartárico, málico e oxálico são usados como alternativas ao HCl na determinação de Ge, Pb e Sn.

A técnica de geração eletroquímica de hidretos é uma proposta para converter a espécie analítica em seu hidreto volátil. Brockmann et al. ⁽³⁴⁾ utilizaram uma cela eletroquímica contendo dois eletrodos de Pt para a

geração do hidreto de arsênio, seguida de determinação por Espectrometria de Absorção Atômica. A principal vantagem apresentada no sistema proposto por Brockmann et al. ⁽³⁴⁾ é o menor efeito de interferência devido aos metais de transição.

Uma das vantagens do método de geração de hidretos é a simplicidade do equipamento, o qual permite que o método seja usado num Espectrômetro de Absorção Atômica por Chama. A maioria dos equipamentos são modificados para automatizar o sistema, facilitar a adição de reagentes, diminuir o tempo da análise, minimizar os erros devido as manipulações durante a análise e reduzir as interferências. No sistema de geração de hidretos mais simples, o hidreto gerado e o H₂ são transportados imediatamente para o atomizador por meio de um gás de arraste. Nos sistemas de fluxo contínuo a solução da amostra e a solução de NaBH₄ são continuamente introduzidas com vazões constantes no gerador usando uma bomba peristáltica. Este tipo de equipamento é usado para a geração do hidreto onde é separado utilizando separadores gás - líquido convencionais ⁽³⁵⁾ ou separação por membrana ⁽³⁶⁾. Estes sistemas têm a vantagem de misturar os reagentes com controle de pH e são mais tolerantes a elementos que interferem na técnica de geração de hidretos. Os sistemas de geração de hidretos em fluxo têm o limite de detecção menor do que os sistemas discretos. Para os sistemas automatizados, o método se mostra mais tolerável ao efeito do HNO₃ em amostras digeridas quando aplicadas à determinação de As e Se em diferentes matrizes ⁽³⁷⁾. Estes sistemas apresentam boa recuperação na presença de muitos metais que interferem na geração de hidretos.

No sistema de injeção em fluxo, o ácido e NaBH₄ fluem continuamente às vazões constantes no gerador e um volume limitado de amostra é injetado na corrente do ácido. A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica tem apresentado vantagens quando associada à técnica de Análise por Injeção em Fluxo como maior frequência analítica, melhor seletividade, maior sensibilidade e menor consumo de reagente ⁽³⁸⁾.

Uma vez que o hidreto é gerado, este pode ser transportado à cela de atomização de duas maneiras: o hidreto é arrastado diretamente ao atomizador

da mesma maneira que é gerado ou é coletado e então transferido para o atomizador. O hidreto gerado pode ser coletado em recipiente fechado sob pressão ⁽³⁹⁾, em um tubo - U imergido em nitrogênio líquido ⁽³⁹⁾ através do qual passa H₂ a frio e então a coleta é feita em uma solução de HgCl₂-H₂SO₄-KMnO₄ ⁽⁴⁰⁾, KI-I₂ ⁽⁴¹⁾, e subsequentemente determinado por Espectrometria de Absorção Atômica. Vários métodos de transferência direta são usados: módulo de fluxo contínuo ⁽³⁹⁾, módulo de injeção em fluxo ⁽³⁷⁾ e módulo em série ⁽³²⁾. A etapa de coleta pode eliminar a possível influência da cinética de geração do hidreto. A estabilidade do hidreto é importante no caso da transferência e coleta (sob pressão e a frio) não sendo recomendado a etapa de coleta para hidretos muito instáveis.

II . 2 . 2 . b - Atomização e mecanismo de atomização de hidretos

Nos primeiros trabalhos com geração de hidretos, Holak ⁽³²⁾ usou a chama convencional de ar - acetileno, mas esta chama foi substituída por uma de H₂ - argônio ⁽³⁷⁾. A atomização por chama é inferior a outros tipos de atomizadores. A sensibilidade é menor devido a diluição do hidreto com os gases da chama. Além disso, a chama apresenta alto valor de absorção de fundo e o ruído afeta o limite de detecção. Portanto, a chama não é recomendada para a determinação de selênio e de outros elementos que geram hidretos, como o arsênio.

O uso de atomizadores de quartzo aquecidos eletricamente ⁽⁴²⁾ ou aquecidos em chamas ⁽⁴³⁾ para a técnica de geração de hidreto foi proposto por Chu et al. em 1972 e Thompson e Thomerson em 1974, respectivamente. Desde então, os tubos de quartzo aquecidos externamente tornaram-se os atomizadores mais usados ⁽⁴¹⁾. Estes atomizadores consistem de tubos em forma de T os quais são alinhados no caminho ótico do aparelho. O tubo central é aquecido eletricamente por uma resistência enrolada no tubo. As duas saídas deste tubo podem ser abertas ou fechadas com janelas de quartzo. Quando as saídas do tubo central estão abertas pode ocorrer a ignição do H₂ na saída do tubo. O problema deve ser contornado com a passagem de uma

corrente de gás inerte na entrada do segundo tubo perpendicular ao tubo central. Outra maneira de evitar a ignição do H₂ é não aquecer as saídas do tubo (44).

Existe um efeito marcante na qualidade da superfície interna do tubo de quartzo na sensibilidade do método(45). A superfície do tubo pode ser condicionada com HF 40% ou então, com alumina(46). Quando comparados com atomizadores com chama, os tubos de quartzo aquecidos externamente têm as seguintes vantagens: o sinal de fundo gerado pela chama é eliminado, há melhor sensibilidade devido ao maior tempo de residência do elemento no caminho ótico e menor diluição do hidreto.

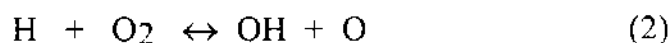
O uso de atomizadores de forno de grafite para a atomização de hidretos é muito conveniente principalmente para a atomização do hidreto de selênio (47,48). Existem dois procedimentos para atomização usando o forno de grafite: atomização direta e a coleta do hidreto no forno seguida pela etapa de atomização. Na atomização direta há transferência do hidreto do gerador para o forno(47), o qual é pré-aquecido à temperatura de $\pm 2200^{\circ}\text{C}$. Embora a técnica F.I.A. na geração do hidreto em conjunto com o forno de grafite possa ser usada, os métodos discretos ou a coleta a frio são mais aplicados(41). A sensibilidade do método utilizando a atomização direta é menor do que a etapa de coleta e atomização. A atomização direta é, também, menor do que a atomização utilizando os atomizadores em tubos de quartzo, porque as dimensões do forno de grafite comercial são pequenas e a alta temperatura de atomização diminui o tempo de residência dos átomos da espécie analítica no caminho ótico e subsequentemente a sensibilidade(41). A técnica de coleta e atomização utiliza o forno de grafite para ambos: para a coleta do hidreto e como cela de atomização. O hidreto é transportado do gerador sendo conduzido ao forno de grafite pré - aquecido, na faixa de $300 - 600^{\circ}\text{C}$, até que a geração seja completa. A espécie analítica é atomizada à temperatura de 2200°C . O primeiro uso da técnica de coleta e atomização foi proposto por Lee(49). Desde então, esta técnica é utilizada para a determinação de vários elementos que formam hidretos, inclusive para o Se(50).

A natureza do tubo de grafite afeta a eficiência de adsorção do hidreto. O uso de tubos de grafite revestidos com paládio tem mostrado maior sensibilidade e precisão⁽⁵¹⁾. Resultados similares podem ser obtidos com o uso de tubos de grafite revestidos por prata⁽⁵²⁾.

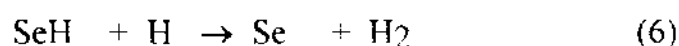
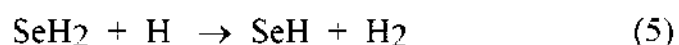
Dois tipos de mecanismo são propostos para a atomização de hidretos: o mecanismo por radical livre de hidrogênio e o mecanismo por decomposição térmica^(53,54).

A atomização de hidretos gasosos em tubos de quartzo aquecidos se deve, predominantemente, a átomos de hidrogênio livres e não pela decomposição térmica. De acordo com cálculos termodinâmicos somente moléculas diméricas, e não átomos, podem ser esperadas à temperatura abaixo de 1000⁰C. É comprovado que nenhum sinal de atomização é obtido para arsênio quando a arsina é introduzida em uma cela de quartzo aquecida em atmosfera de gás inerte, isto é, na ausência de hidrogênio⁽⁵⁵⁾.

Embora o mecanismo de formação de radicais não seja entendido plenamente, a presença de traços de oxigênio é importante na formação de radicais de acordo com as seguintes reações⁽⁴²⁾:

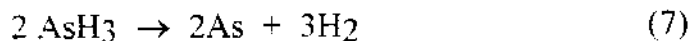


O mecanismo de atomização do hidreto provavelmente procede via interação de espécies com átomos de hidrogênio. Para o selênio, duas reações consecutivas podem ser consideradas:



Reações análogas ocorrem para o hidreto de arsênio e outros hidretos⁽⁴⁵⁾. No entanto, com base na concentração do equilíbrio de radicais

livres e a temperatura predominante em tubos de quartzo, conclui-se que radicais não estão presentes em concentrações suficientes para as reações do tipo das equações (5) e (6). Portanto, os seguintes mecanismos são propostos para a atomização do AsH₃⁽⁵⁴⁾:



as quais são catalisadas por radicais H e OH. Um mecanismo similar é sugerido para a decomposição do SeH₂⁽⁵⁵⁾.

O efeito do oxigênio e do hidrogênio na atomização dos elementos que formam hidretos em atomizadores de tubos de quartzo aquecidos são indicados para determinação de As, Se, Bi, Sb e Sn⁽⁵⁵⁾. Provavelmente estes gases são usados para formarem radicais, os quais devem participar nas reações como das equações 2 a 8.

Dedina et al. ⁽⁴¹⁾ sugeriram dois mecanismos independentes para a atomização do hidreto de selênio em forno de grafite: o mecanismo a baixas temperaturas e o mecanismo a altas temperaturas. O mecanismo a baixas temperaturas é similar aquele em atomizadores de tubo de quartzo. Este mecanismo é devido a colisões com átomos H formados no forno de grafite por reações de oxigênio com hidrogênio, o qual é efetivo somente na presença de traços de oxigênio a temperaturas abaixo de 1200⁰C.

O mecanismo a altas temperaturas envolve decomposição térmica do hidreto em fase gasosa e/ou na superfície do forno de grafite, o qual torna-se efetivo em temperaturas acima de 1600⁰C e é independente da presença de oxigênio. O mecanismo de atomização em forno de grafite para os hidretos As, Sb, Se, Sn e Pb foi estudado por Sturgeon et al. ⁽⁵¹⁾. O hidreto é depositado no forno de grafite pré-aquecido via decomposição térmica. A superfície porosa aumenta a eficiência da geração. O metal do respectivo hidreto formado é reduzido e deve, subsequentemente, ser re-oxidado durante a etapa de geração. A adsorção do hidreto em tubos de grafite revestidos em paládio

deve ser resultado da decomposição catalítica do hidreto pelo metal paládio⁽⁵¹⁾. Embora a atomização do hidreto seja observada, seu mecanismo exato de atomização não é claro e necessita de mais estudos.

II . 2 . 2 . c - Interferentes e mascarantes na técnica de geração de hidretos

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica combinada à Geração de Hidretos com atomizadores eletrotérmicos tem sido utilizada para a determinação de elementos traço⁽²⁹⁾. No entanto, esta técnica apresenta interferências que podem ser divididas em dois grupos: interferência da fase líquida e interferência da fase gasosa.

A interferência da fase líquida ocorre na fase líquida durante a formação do hidreto ou durante a transferência do hidreto da solução devido a mudanças na velocidade de formação do hidreto e/ou diminuição na eficiência de formação do hidreto.

A interferência na fase líquida pode ser dividida em dois grupos: interferências devido a elementos que têm diferentes estados de oxidação e interferências devido ao efeito de matriz⁽⁴¹⁾.

A interferência de elementos com diferentes estados de oxidação ocorre devido ao estado de oxidação da espécie analítica na amostra não ser o mesmo que o estado de oxidação da solução padrão. Alguns elementos como: As, Sb, Se e Te existem na solução em dois estados de oxidação. Estes elementos quando presentes em amostras ambientais e biológicas existem em várias formas orgânicas. Neste caso, é necessário decompor completamente o material orgânico durante o pré-tratamento da amostra para a determinação da espécie analítica de interesse.

A interferência devido ao efeito de matriz ocorre quando a matriz afeta a eficiência da formação do hidreto. Neste caso, alguns ácidos inorgânicos usados em procedimentos de digestão da amostra afetam drasticamente a geração do hidreto de interesse. A interferência destes ácidos é maior em atomizadores de tubos fechados do que em tubos de quartzo abertos⁽⁵⁶⁾. O efeito do HNO₃ em sistemas de geração de hidretos é bem conhecido sendo o

seu efeito mais pronunciado na determinação do hidreto de selênio⁽⁵⁶⁾. Metais alcalinos e alcalinos terrosos não interferem na técnica de geração de hidretos, mas os metais que podem ser reduzidos facilmente pelo NaBH₄ interferem na geração de hidretos, por exemplo: o cobalto, o níquel, os elementos do grupo do cobre e os metais nobres⁽⁵⁷⁾. Estes metais interferem na técnica de geração de hidretos, sendo que o selênio é o elemento mais afetado.

Embora muitos autores mencionem o efeito de interferência de elementos na fase líquida, pouca informação se sabe a respeito do possível mecanismo. Alguns mecanismos são propostos na literatura. Smith⁽⁵⁷⁾ propôs a redução preferencial do metal interferente para menor estado de oxidação ou para o estado fundamental. Neste caso, o metal precipitado pode causar a coprecipitação do elemento de interesse, portanto, adsorvendo o hidreto formado, decompondo-o cataliticamente ou retardando sua geração na solução.

Pierce e Brown⁽⁵⁸⁾ mostraram que a ordem de adição da solução de HCl e de NaBH₄ num sistema automatizado causa diferença significativa nos resultados analíticos para a determinação de arsênio e selênio. Se o NaBH₄ é adicionado primeiro, observa-se a formação de um precipitado coloidal. Este precipitado formado, o qual pode conter cobalto, níquel e prata, diminui o sinal analítico do selênio. Eles sugeriram, então, que estes íons interferentes competem com o selênio para a redução e o consumo do agente redutor. Não foi observada nenhuma interferência destes íons quando a solução de HCl é adicionada antes da solução de NaBH₄.

Kirkbright e Taddia⁽⁵⁹⁾ também notaram que na presença dos elementos níquel, paládio e platina, depois da adição do redutor, um precipitado preto finamente disperso é formado. Eles explicaram que o menor efeito de interferência, aumentando a acidez da solução, é devido a maior solubilidade dos metais interferentes em meio ácido. Os vários íons metálicos de transição formam complexos em meio de HCl. Os complexos formados são provavelmente responsáveis pela maior faixa de determinação dos hidretos livres do efeito de interferência de Co²⁺, Fe²⁺ e Ni²⁺ em HCl 5,0 mol/L.

Mayer et al.⁽⁶⁰⁾ não mencionaram a precipitação dos metais de transição na determinação de selênio. Eles indicaram que o hidreto de selênio,

depois de gerado, forma selenetos insolúveis ou complexos estáveis com íons livres do metal interferente. Isto ocorre, quando o hidreto de selênio é transportado da solução amostra pelo gás de arraste. Portanto, o efeito de interferência na reação gás - líquido dependerá somente da velocidade de difusão do hidreto de selênio para a interface gás - líquido e da concentração do íon interferente na solução de medida.

Mayer et al. ⁽⁶⁰⁾ também encontraram que a interferência de metais de transição para o selênio depende fortemente da concentração do ácido na solução de medida. A interferência do cobre, níquel e cobalto na geração do hidreto de selênio pode ser explicada pela alta velocidade de decomposição do NaBH_4 em meio ácido e do efeito catalítico destes íons durante a decomposição ⁽⁵⁹⁾. O efeito catalítico deve ser devido ao íon metálico ou às partículas metálicas finamente dispersas formadas pela redução do íon metálico pelo NaBH_4 , ou devido aos compostos de borohidretos metálicos formados pela redução do íon metálico e NaBH_4 ⁽⁶¹⁾. Os constituintes da matéria orgânica são também grandes interferentes. O ácido húmico ⁽⁶²⁾ e outros compostos orgânicos dissolvidos em águas naturais ⁽⁶³⁾ são interferentes na formação do hidreto de selênio.

A interferência na fase gasosa é devida a elementos que formam hidretos voláteis. Esta interferência pode ocorrer na superfície ou no volume morto do gerador, nos tubos de condução e/ou no atomizador. Estes fatores teriam um efeito direto, caso observasse a geração simultânea do interferente e da espécie analítica, ou um efeito memória, caso a efeito de interferência persistisse depois de cessar a geração do hidreto interferente, na determinação da espécie analítica em particular.

A interferência na fase gasosa pode ser dividida em dois grupos: a interferência devido ao transporte que ocorre no caminho do gerador para o atomizador, causando decréscimo e/ou perda da espécie analítica; e a interferência durante a atomização, a qual depende do mecanismo de atomização do hidreto e da espécie analítica num determinado tipo de atomizador.

Considerando o mecanismo de atomização do hidreto e a presença de átomos livres da espécie analítica transferida ao atomizador, dois tipos de interferências de atomização podem existir⁽⁴⁰⁾: a interferência populacional de radicais que ocorre quando o interferente muda a população de átomos de hidrogênio; e a interferência causada quando um elemento diminui os átomos livres da espécie analítica devido às reações da espécie analítica com o interferente na fase gasosa.

O mecanismo de interferência em tubos de quartzo aquecidos externamente é ainda desconhecido. As interferências neste tipo de atomizadores devem ser resultados da formação de moléculas diatômicas estáveis como AsSb⁽⁶⁴⁾. De acordo com cálculos termodinâmicos, a formação de moléculas diatômicas entre a espécie analítica (arsênio) e a matriz é indicada como a maior fonte de interferência de matriz na fase gasosa em atomizadores de forno de grafite ⁽⁶⁴⁾.

A identificação dos íons interferentes e procedimentos para eliminar ou, pelo menos, minimizar os seus efeitos são importantes para o desenvolvimento do método analítico. A presença e o efeito crítico destes interferentes dependem das condições experimentais, do sistema de geração do hidreto e do atomizador usado.

Muitos métodos são utilizados para eliminar ou minimizar a interferência dos elementos tanto na fase líquida quanto na fase gasosa.

O procedimento mais simples é aumentar a acidez do meio reacional⁽⁶⁵⁾. Um outro procedimento é alterar a quantidade de NaBH₄⁽⁶⁶⁾. Vários reagentes são usados para minimizar e eliminar interferentes. A maioria deles são bases de Lewis que podem funcionar como ligantes, sendo que alguns são agentes redutores, como EDTA⁽⁶⁷⁾, KI⁽⁶⁸⁾, KCN⁽⁶⁹⁾, tiouréia⁽⁶⁸⁾, ácido ascórbico⁽⁶⁸⁾, 1,10-fenantrolina⁽⁷⁰⁾, tiosemicarbazida⁽⁷¹⁾ e L-cisteína⁽⁷¹⁾. Alguns metais como ferro⁽⁷²⁾, cobre⁽⁷³⁾, telúrio⁽⁷⁴⁾ e mercúrio⁽⁷⁵⁾ são empregados para minimizar o efeito de interferentes de alguns íons metálicos.

Fleming e Ide⁽⁷⁶⁾ encontraram uma forte interferência do níquel e de outros metais de transição na determinação de elementos que formam hidretos na ausência de ferro (III). Na presença de ferro(III), no entanto, a maioria destas interferências desaparecem. Neste caso, as amostras de ligas metálicas podem ser analisadas sem grandes problemas. O efeito do ferro torna-se aparente na determinação do As e Se em efluentes industriais onde a interferência do níquel pode ser minimizada na presença de altas concentrações de ferro ⁽⁷²⁾. O efeito do ferro (III) é devido a redução preferencial desta espécie antes da redução de íons níquel para o estado elementar, o qual então adsorve e decompõe o hidreto formado.

As técnicas de separação por extração líquido-líquido⁽⁷⁷⁾ e coprecipitação⁽⁷⁸⁾ são também utilizadas para minimizar a interferência de alguns elementos.

Thompson et al. ⁽⁷⁹⁾ aplicaram a coprecipitação com óxido de lantânio para a separação de elementos que formam hidretos em matrizes contendo alto teor de cobre. As interferências do níquel e de outros metais de transição foram contornadas.

Para a determinação de selênio em amostras contendo alto teor de níquel, foi proposta a remoção do níquel da solução por precipitação com hidróxido de sódio⁽⁸¹⁾. O selênio permanece quantitativamente na solução e é determinado depois da acidificação ⁽⁸⁰⁾.

Estudos mais recentes utilizam resinas de troca iônica para separar os elementos interferentes da espécie analítica.

Fador e Barnes ⁽⁸¹⁾ usaram uma resina contendo poliditiocarbamato para remover Al, Sb, Bi, Te e Sn em amostras de urina. O uso da resina Chelex 100 foi avaliada para remover interferentes na determinação de Sb, As e Se ⁽⁸²⁾.

De acordo com Howard e Arbar-Zaver ⁽⁸³⁾, os efeitos de Ag(I), Au(III), Cr(VI), Fe(III), Ge(IV), Mo(VI), Sb(III), Sb(V) e Mn(VII) são

eliminados com o uso de solução de 0,02 mol/L de EDTA ou com a resina Chelex 100.

Vijan e Lueng ⁽⁸⁴⁾ reduziram a interferência de Cu e Ni na determinação de selênio por formação de cloro - complexos em HCl 7,5 mol/L.

Kingston et al. ⁽⁸⁵⁾ descreveram um método para determinar vários metais em água de mar utilizando resina Chelex 100. O pH foi ajustado em 5,0 a 5,5 e, então a amostra foi passada pela resina contida em uma coluna. O ácido nítrico 2,5 mol/L foi utilizado como eluente.

Hershey e Keliher ⁽⁸⁶⁾ utilizaram resinas de troca iônica para reduzir interferências de elementos na determinação de As e Se. As resinas estudadas foram Chelex 100, AG 50W-X16 e Dowex 50W-X16. O procedimento proposto utiliza sistemas discretos e mini-colunas. O efeito do pH para a remoção dos metais foi avaliado. De acordo com estes autores, o procedimento em mini-colunas é mais eficiente que os sistemas discretos.

Os procedimentos de separação por troca iônica utilizando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo apresentam vantagens em relação aos métodos discretos tais como: menor consumo de amostra e reagente, maior eficiência de separação e simplicidade de operação⁽⁸⁷⁾. Em virtude destas vantagens, tais procedimentos constituem etapas alternativas eficazes para a minimização do efeito de interferentes para o desenvolvimento do método analítico.

II . 3 - Pré - concentração em Fluxo

II . 3 . a - Características e modalidades da técnica de pré-concentração

Na determinação de elementos traço em amostras complexas é necessário que os métodos analíticos sejam sensíveis e seletivos para detectar íons em níveis muito baixos de concentração, havendo necessidade de combinar procedimentos analíticos com uma instrumentação eficiente,

mediante o uso de métodos adequados caracterizados por boa precisão, exatidão e simplicidade operacional.

Apesar dos recentes avanços na instrumentação analítica, a determinação direta de elementos traço é ainda difícil por causa da falta de sensibilidade e seletividade dos métodos.

Assim, visando melhorar a sensibilidade dos sistemas analíticos de detecção, são propostos vários procedimentos para pré-concentração e separação de elementos traço de acordo com a natureza das amostras, a concentração da espécie analítica e os métodos de detecção.

Para a geração de hidretos, uma das vantagens apresentadas por esta técnica é a possibilidade de pré-concentrar o hidreto formado antes deste alcançar o atomizador.

O método de pré-concentração do hidreto por resfriamento foi introduzido por Holak ⁽³²⁾. Neste método, o produto da reação de geração do hidreto é levado para um recipiente de coleta contendo nitrogênio líquido. O hidreto é condensado enquanto o hidrogênio é volatilizado. Depois que a reação foi completa, o recipiente contendo o hidreto é removido do nitrogênio líquido e aquecido rapidamente para volatilizar o hidreto. O hidreto é conduzido ao atomizador por um fluxo de argônio. O método de resfriamento é limitado devido a baixa conversão de alguns elementos depois da etapa de coleta ⁽⁸⁸⁾.

Outro método empregado para pré-concentração de hidretos voláteis é coleta em forno de grafite. Nesta técnica os hidretos de certos elementos são “sequestrados” pela superfície do forno. O mecanismo de “sequestro” dos hidretos As, Se, Bi, Sb e Sn foi estudado por Sturgeon et al. ⁽⁸⁹⁾. Ele verificou que os hidretos são depositados cataliticamente na superfície do paládio em baixas temperaturas por quimiosorção. O selênio pode ser sequestrado na superfície do forno revestido por prata à temperatura de 200-400⁰ C. O método de pré-concentração em forno de grafite tem grande aceitação devido a alta eficiência de transporte da amostra, a etapa de coleta e atomização e detecção por Espectrometria de Absorção Atômica.

Sturgeon et al. usaram a técnica de coleta para determinar arsênio⁽⁸⁹⁾, estanho⁽⁹⁰⁾ e chumbo⁽⁹¹⁾. Nos trabalhos procedentes⁽⁹¹⁾ eles descreveram os méritos da técnica utilizando páladio como modificador químico.

A extração líquido-líquido é um método muito usado para a pré-concentração e a separação de elementos traço. No entanto, esta técnica exige grande volume de amostra.

Atualmente, a extração líquido-líquido^(4, 92) e a separação gás-líquido^(4, 92) são procedimentos adaptados aos sistemas de fluxo. As vantagens introduzidas pela técnica de separação e de pré-concentração em fluxo são várias e têm grande interesse analítico.

Por outro lado, os métodos de pré-concentração por sorção são superiores à extração líquido-líquido devido sua simplicidade, rapidez e alto fator de concentração. O fenômeno de sorção utilizado para pré-concentração inclui: adsorção, absorção, adsorção química e condensação de compostos gasosos ou substâncias dissolvidas em adsorventes líquidos ou sólidos. Na prática os fenômenos de adsorção e quimiosorção são úteis para enriquecimento de metais traços em muitas amostras⁽⁹³⁾.

Um grande número de adsorventes são usados para a pré-concentração de espécies metálicas em solução aquosa. Estes incluem carvão ativo, polímeros orgânicos porosos, materiais que formam complexos em resinas quelantes, materiais de troca iônica, reagentes imobilizados ou suportados em sílica-gel e em polímeros naturais como a celulose⁽⁹³⁾.

Para a pré-concentração e separação de metais traços em águas naturais, uma grande variedade de resinas quelantes são utilizadas. As resinas Chelex-100 e Dowex A-1 as quais contêm um grupo funcional ácido iminodiacético são incorporadas ao polímero estireno DVB (divinilbenzeno).

Recentemente, Pai et al.⁽⁹⁴⁾ questionaram a proposição de que a baixa conversão de metais utilizando a resina Chelex-100 seja devido a alta concentração de Mg (II) e Ca (II) presentes nas amostras, os quais agem como competidores dos íons metálicos pelos sítios ativos da resina.

Estudos recentes têm sido feitos no sentido de aumentar a seletividade, a velocidade de troca, a capacidade e a estabilidade físico-química de resinas quelantes (95).

A grande variedade de grupos que formam complexos são introduzidos em vários tipos de polímeros por modificações químicas da matriz ou pela síntese de ligantes monoméricos.

Dos agentes quelantes imobilizados em sílica-gel, a 8-hidroxiquinolina é a mais usada para a pré-concentração de elementos traço. A sílica-gel tem apresentado como o melhor suporte para sorbentes de metais traços devido às suas propriedades hidrofílica, a resistência a ácidos e ao calor e a porosidade. No entanto, o processo de sililação é essencial na preparação de reagentes imobilizados em sílica-gel. Este tratamento torna a superfície da sílica-gel altamente hidrofóbica e, portanto, impede a difusão dos íons metálicos no gel, diminuindo a retenção dos íons metálicos (93). A preparação de adsorventes que formam complexos é complicada, gasta tempo e são poucos os agentes complexantes que podem ligar à sílica-gel.

As propriedades desejáveis para que um reagente possa ser imobilizado num determinado adsorvente são: insolubilidade em água, alta solubilidade em solventes de baixo ponto de ebulição, estabilidade em solução de baixo pH e formação rápida de complexos insolúveis com o íon metálico de interesse. O 2-mercaptobenzotiazol, 2-mercapto-N-2-naftil-acetamida, 1-nitroso-2-naftol e mercapto-fenil-ditio-diazol (Bismutiol II) são reagentes que satisfazem estes pré-requisitos (93).

O desenvolvimento de métodos para a coleta seletiva de traços de selênio em amostras de interesse ambiental e biológico tem sido feito com o uso de reagentes suportados em resinas de troca iônica os quais têm três funções principais: reação seletiva com Se(IV), reação de troca iônica com a resina e forte adsorção física na resina.

A pré-concentração seletiva do selênio em resinas de troca iônica contendo reagentes orgânicos sulfurados é possível, através de reações com grupos tióis formando um complexo de selenotrissulfeto, o qual forma ligações -S-Se-S com a resina (96).

Nakayama et al. ⁽⁹⁷⁾ utilizou o Bismutiol II (Figura II.2) suportado em resina de troca iônica (Amberlite IRA-400) para a pré-concentração de selênio e posterior determinação fluorimétrica do selênio em amostras de águas. A alta adsorção seletiva do Se(IV) é feita pela formação de ligações de selenotrisulfeto estáveis do Bismutiol II e Se(IV) na resina. O Bismutiol II é imobilizado na resina por troca iônica e por adsorção física. O método foi comparado com o método de co-precipitação com telúrio. O sistema resina-Bis II foi mais satisfatório para a determinação de Se(IV) em águas de mar e estuárias porque os compostos orgânicos interferem no método de co-precipitação do selênio. Por outro lado, a adsorção do selênio no sistema resina-Bis II é menos afetada por compostos orgânicos porque a reação Se:Bis II é específica.

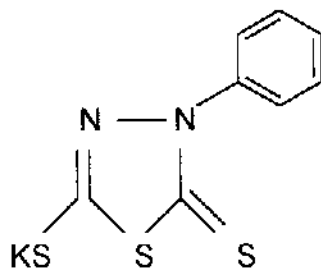


Figura II.2 - Bismutiol II

Nakayama et al. ⁽⁹⁸⁾ utilizaram o sulfonato de Bismutiol II (Figura II.3) suportado em resina de troca iônica. A sorção do Se(IV) pelo sistema resina/sulfonato de Bismutiol II (Bis-S II) é completa em meio de HCl 0,3 - 2,0 mol/L. Mas o Se(VI) é dificilmente adsorvido na resina Bis-S II em meio de HCl 0,3 - 1,8 mol/L. A razão estequiométrica do complexo Se(IV):Bis-S II é aproximadamente 1:4.

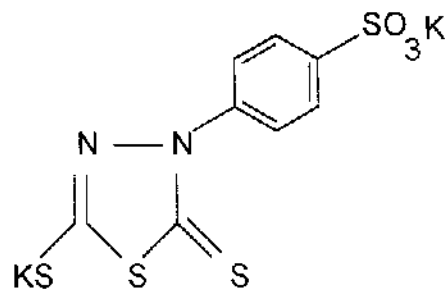


Figura II.3 - Sulfonato de Bismutiol II

O selênio é eluído da resina com solução de L-cisteína ou com solução de penicilamina e, então, determinado por espectrofluorimetria. Itoh et al. (99) descreveram que o sulfonato de Bis II é o reagente mais efetivo para o Se (IV) do que o Bis II. E, também, determinaram Se(IV) pela técnica Espectrométrica de Absorção Atômica com Geração de Hidretos.

Aoyama et al. (100) adaptaram o método proposto por Itoh et al. (99), utilizando o Bis-S II suportado em resina de troca iônica em fluxo. Aoyama et al. (100) utilizaram um procedimento similar ao proposto por Itoh et al. (99), adaptando uma coluna de resina (Amberlite CG-400) contendo o reagente sulfonato de Bis II para a pré-concentração e determinação catalítica do selênio. O selênio é adsorvido como selenotrisulfeto na resina por reação com sulfonato de Bis II sendo eluído com solução de penicilamina em um analisador de fluxo contínuo. O tempo necessário para a determinação de selênio é de aproximadamente 20 minutos.

II . 3 . b - Definições de termos utilizados na pré - concentração em fluxo

Fang (101) considerou alguns termos importantes para avaliar os sistemas de pré-concentração em linha.

- Fator de Enriquecimento (E.F.)

O Fator de Enriquecimento (E.F.) é usado para avaliar os sistemas de pré - concentração ⁽¹⁰²⁾, no entanto, o significado exato deste termo não é bem definido. Teoricamente, o termo significa a razão entre a concentração da espécie analítica na fase concentrada, C_e , e a concentração original na amostra, C_s , isto é,

$$E.F. = C_e / C_s$$

Na prática, a avaliação do E.F. não é tão simples e direta como parece, porque a concentração da espécie analítica na fase concentrada, C_e , é desconhecida. Portanto, uma aproximação para E.F. é defini-lo como a razão do coeficiente angular da secção linear da curva de calibração antes e depois da pré-concentração. A avaliação é feita de acordo com o aumento da resposta analítica, e não com o aumento da concentração analítica.

- Eficiência da Concentração (C.E.)

Uma das principais vantagens da implementação de sistemas de pré - concentração em fluxo é a sua alta eficiência quando comparada com os sistemas discretos. Embora, o E.F. seja indispensável para avaliar os sistemas de pré - concentração, ele não fornece informações a respeito da eficiência do sistema de pré-concentração. O alto E.F. não significa necessariamente alta eficiência. Em um estudo utilizando coluna de troca iônica para pré-concentração em Espectrometria de Absorção Atômica por Chama, Fang et al. ⁽¹⁰²⁾, sugeriram o uso da eficiência da concentração (C.E.) para avaliar e comparar a eficiência de pré-concentração dos sistemas de fluxo. O termo C.E. é definido como o produto do fator de enriquecimento (E.F.) e a frequência de amostragem definida em termos de números de amostras analisadas por minuto, expressa em min^{-1} . Portanto, se f é a frequência de amostras analisadas por hora, temos:

$$C.E. = E.F.(f/60)$$

A expressão mostra o fator de enriquecimento da espécie analítica encontrado pelo sistema em 1 minuto. O uso do valor C.E. não vale somente como critério para refinar os dados dos sistemas de pré - concentração, mas também para comparar a eficiência dos procedimentos de pré-concentração com diferentes princípios de separação.

- Fator de Transferência de Fase (P)

Nos métodos de pré - concentração em fluxo, a espécie analítica não é completamente transferida para a fase concentrada devido ao tempo de equilíbrio não ser suficiente para a transferência completa e devido à ineficiência do meio de coleta, por exemplo: a capacidade da coluna de sorção. No primeiro caso, a menor quantidade da espécie analítica transferida para a fase concentrada não diminui o E.F., desde que esta perda seja compensada pelo aumento da taxa de pré - concentração da amostra. No segundo caso, os resultados são afetados pelo efeito de matriz e pelo efeito de interferências. Portanto, estes dois aspectos devem ser considerados. A pequena eficiência de transferência da espécie analítica da fase-amostra para a fase-concentrada, tão diretamente, como a extração por solvente ou os métodos de difusão gasosa, ou indiretamente, como coluna de sorção e coprecipitação, deve ser quantificada pelo fator de transferência de fase P ⁽¹⁰³⁾.

O fator de transferência de fase, P , é definido como a razão entre a massa da espécie analítica na fase concentrada, m_e , e a massa da espécie analítica na amostra original, m_s .

$$P = m_e/m_s$$

Nos sistemas de pré-concentração em colunas P é referido como a eficiência de retenção (%E), definido por Hartenstein et al.⁽¹⁰⁴⁾ como a percentagem (%) da espécie analítica na amostra transferida para a coluna seguida pelas etapas de sorção e de eluição.

II . 3 . c - Dispersão em sistemas de pré-concentração em fluxo com colunas

Nos sistemas de fluxo, a introdução da amostra em um fluxo transportador gera um gradiente de concentração devido a dispersão da amostra nesta corrente carregadora ocasionando uma zona de amostragem definida. O coeficiente de dispersão (D), proposto por Ruzicka e Hansen⁽³⁾, é definido como a razão da concentração da espécie analítica de interesse no fluido carregador antes e depois da dispersão, sendo expresso por:

$$D = C^0 / C$$

onde C^0 é a concentração da espécie analítica na solução injetada e C é a concentração da espécie analítica na zona de dispersão sob determinadas condições.

D é adimensional, e tem um valor maior que 1,0. Os sistemas em fluxo com coeficientes de dispersão acima de 10,0 unidades são classificados como sistemas de alta dispersão, aqueles entre 2,0 a 10,0, são considerados sistemas de média dispersão, enquanto valores abaixo de 2,0 são sistemas de baixa dispersão. Embora o valor de D menor do que 1,0 possa ser usado para descrever os sistemas de pré-concentração onde a concentração final do constituinte seja maior do que a original, alguns autores não consideram D (coeficiente de dispersão) um parâmetro adequado e a sua definição não deve ser estendida aos sistemas de pré-concentração em fluxo.

A dispersão é um fator importante para a otimização dos sistemas de fluxo em colunas tendo como objetivo de melhorar a sensibilidade e deve ser considerado durante todas as etapas do método desenvolvido. Os aspectos

práticos para minimizar a dispersão em diferentes etapas de operações nos sistemas de pré-concentração são (4):

- Dispersão durante a coleta da amostra: A principal característica dos sistemas de pré-concentração em colunas baseia-se no fato de que a espécie analítica é adsorvida na coluna antes da eluição. Neste processo de coleta, a amostra pode ser determinada pela transferência de um volume de amostra contida num certo compartimento para a solução do carregador (baseados no volume), ou então na passagem da amostra por um determinado período de tempo na coluna com a interrupção (ou desvio) da passagem do carregador (baseados no tempo). Para a coleta baseada no volume de amostra, a dispersão de um volume definido de amostra na corrente carregadora durante o transporte da amostra para a coluna é significativa. Na coleta baseada no tempo, a dispersão da amostra é negligenciável, sendo preferível do que a coleta baseada no volume.

- Dispersão durante a sorção e eluição: aqui o termo “dispersão” é usado não somente referindo-se a distribuição de massa da espécie analítica na solução, mas também aos efeitos decorrentes da coluna em linha. A dispersão da espécie analítica durante a sorção e eluição é influenciada pelos seguintes fatores (3):

- dimensões geométricas da coluna
- as propriedades do material adsorvente
- as propriedades do eluente
- a vazão
- a configuração do sistema de fluxo utilizando a coluna em linha.

As colunas em linhas recheadas com material inerte usualmente têm efeito limitado na dispersão da amostra injetada. Quando o material adsorvente ativo é usado, o adsorvente contribui com a dispersão. Na pré-concentração em colunas, existe a banda da espécie analítica adsorvida antes da eluição. A banda da amostra em diferentes graus depende do coeficiente de distribuição

da espécie analítica na fase estacionária (coluna) e na fase móvel (solvente da amostra). Não está bem definido como a dispersão na etapa de pré-eluição durante a coleta da amostra influencia a dispersão na eluição final. Um modelo matemático do processo de eluição em coluna em linha proposto por Li e Tsalev⁽¹⁰⁵⁾ mostra que o perfil do pico de eluição independe da distribuição da espécie analítica na coluna. No entanto, o sistema que eles usaram para o modelo é idealizado e constituído por uma mini-coluna recheada com bolas de vidro silanizado impregnado com um filme adsorvente.

O monitoramento do sinal de eluição é uma característica importante para a pré-concentração em fluxo o qual se relaciona com alta eficiência do método. Nos métodos discretos, a pré-concentração em coluna é quase sempre feita pela coleta da fração do eluente contendo a espécie analítica. A leitura é feita, então, na solução homogênea sendo a média da concentração nas diferentes frações. Em medidas de fluxo com pré-concentração em colunas, a altura de pico de eluição é usada, isto é, as medidas são feitas numa pequena fração a qual contém a máxima concentração da espécie analítica. A forma do pico de eluição e as características da dispersão são mais importantes do que nos métodos discretos. Os parâmetros experimentais que influenciam o forma do pico devem ser otimizados. A dispersão, neste caso, deve envolver a transferência de massa entre a fase estacionária e a fase móvel.

- Dispersão durante o transporte do eluente e reações após a coluna: depois da etapa de eluição na coluna, o carregador contendo a zona de amostra concentrada pode ser transportado diretamente ao detector ou formar um produto detectável antes de ser transportado ao detector. No primeiro caso, são usados como métodos para a detecção a Espectrometria de Absorção Atômica e Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado e as medidas potenciométricas de eletrodo seletivo. No segundo caso, as maiores aplicações são na espectrofotometria, espectrofluorimetria e quimiluminescência, as quais geralmente exigem reações após a coluna. Em ambos os casos, a minimização da dispersão nos tubos de condução entre a coluna e o detector é essencial para se obter melhores fatores de

enriquecimento. Para o transporte direto, tubos menores e mais estreitos devem ser usados. A contribuição da dispersão é avaliada em vários tubos condutores nos sistemas de Análise por Injeção em Fluxo aliados aos métodos Espectrométricos de Absorção Atômica ⁽⁴⁾. Os estudos são conduzidos no sentido de otimizar as condições experimentais para minimizar o efeito da dispersão. Os tubos de comprimento menores, não excedendo 20 cm ($\phi_j = 0,35$ mm) são recomendados para os sistemas onde não ocorrem reações após a coluna. Em sistemas onde ocorrem reações após a coluna, frequentemente as condições de pH do eluente não são as mesmas condições de pH da reação. Neste caso, reagentes e soluções tampão devem ser introduzidos numa corrente carregadora adicional. Então, uma bobina de reação é necessária para o desenvolvimento da reação. Todos estes fatores contribuem para a dispersão da espécie analítica e devem ser otimizados para que o efeito da pré-concentração não diminua significativamente devido às reações após a coluna.

II . 3 . d - Considerações práticas dos sistemas de pré-concentração em fluxo com colunas

Os métodos analíticos envolvendo etapas de separação e de pré-concentração em fluxo apresentam grandes vantagens em relação aos métodos discretos em fluxo, tais como⁽⁴⁾ :

- * alta frequência analítica, 1 - 2 ordens de magnitude maiores do que os procedimentos discretos. Os métodos de separação e de pré-concentração em fluxo apresentam pequeno tempo de operação, tipicamente 10 - 200 determinações/hora (incluindo etapas de separações).
- * alta eficiência de enriquecimento para sistemas de pré-concentração, tipicamente um fator de 5 - 50 maior do que os procedimentos discretos.
- * baixo consumo de amostra, 1 - 2 ordens de magnitude menores do que os procedimentos discretos. Esta é uma característica importante para a determinação de elementos traço em amostras biológicas, por exemplo: amostras de sangue.

- * baixo consumo de reagentes, 1 - 2 ordens de magnitude menores do que os procedimentos discretos. Esta é uma característica importante quando reagentes caros são usados.
- * alta reprodutibilidade. 1 - 3% desvio padrão relativo
- * fácil automatização
- * baixos riscos de contaminação permitindo o uso de sistemas fechados. Esta é uma característica importante para a determinação de traços.
- * o espaço necessário no laboratório para a montagem do analisador de fluxo é pequeno.

Para a técnica F.I.A., as etapas de separações e de pré-concentração em linha por sorção geralmente envolvem o uso de colunas. Bergamin et al. (106) foram os primeiros a utilizarem uma mini-coluna de troca iônica em fluxo para a pré-concentração e determinação de íons NH_4^+ .

As técnicas de separação e de pré-concentração em fluxo são mais fáceis de serem operadas do que alguns métodos convencionais de separação e têm grandes vantagens devido a alta versatilidade, permitindo o uso de diversos adsorventes, de sistemas complexantes e de eluentes. No entanto, algumas características restritas são inerentes ao uso de colunas em linha: as colunas recheadas geram uma pressão no fluxo que depende das dimensões da coluna e do material do recheio, assim como da vazão de fluxo na coluna.

As colunas nos sistemas de pré-concentração em fluxo são menores do que nos sistemas discretos e, geralmente, têm a capacidade de 15 a 400 μL .

A coluna está diretamente relacionada com a eficiência dos sistemas de fluxos. As condições experimentais ótimas utilizando a coluna em linha dependem de vários fatores: da vazão e do volume da amostra, do adsorvente, da especificidade e do tamanho das partículas do material do recheio e do efeito de interferência de elementos.

Para a pré-concentração por sorção, a sequência de amostragem está sempre associada com a pré-concentração das amostras na coluna recheada, que pode ser feita diretamente, por aspirar a amostra do recipiente (tempo de pré-concentração), ou indiretamente aspirando a amostra de volume fixo num determinado carregador (pré-concentração por volume).

O valor E.F. (Fator de Enriquecimento) dos sistemas de pré-concentração está diretamente relacionado com a quantidade de amostra pré-concentrada na coluna, a qual depende do tempo e da vazão de pré-concentração (4).

Embora maiores vazões para a coleta da amostra sejam desejáveis para a obtenção de altos valores de E.F. e C.E. (Eficiência de concentração), a vazão de coleta é limitada às características cinéticas do material adsorvente e da capacidade do sistema em manter-se estável em altas pressões.

Quando o tempo de pré-concentração é definido, a quantidade da espécie analítica retida na coluna e a eluição refletirão na resposta analítica. Embora a retenção completa da espécie analítica não seja um pré-requisito para os procedimentos de fluxo, sistemas com baixos valores de P (Fator de Transferência de Fase) são mais sujeitos ao efeito de interferência.

A otimização da vazão de pré-concentração da amostra afetará a sensibilidade e a seletividade do método, portanto sendo um parâmetro importante que deve ser considerado a fim de manter o compromisso entre a sensibilidade e a seletividade do método desenvolvido.

A eluição afetará o grau do fator de enriquecimento e/ou a eficiência de concentração. O eluente não deve atacar o adsorvente na coluna. Os ácidos e bases concentrados são considerados bons eluentes, mas não são convenientes para a maioria dos adsorventes. Além do mais, ácidos e bases concentrados tem propriedades corrosivas para os sistemas de nebulização em Espectrometria de Absorção Atômica.

A vazão de eluição é um parâmetro importante na pré-concentração em colunas e está diretamente relacionada com a sensibilidade e a eficiência dos sistemas. Portanto, a vazão de eluição é um fator crítico para a eficiência dos sistemas. A vazão de eluição dependerá da espécie analítica retida no adsorvente e da força do eluente. Experimentalmente, a vazão de eluição deve diminuir até que E.F. aproxima-se do valor estacionário. Se a eficiência de concentração for o parâmetro a ser otimizado, então um compromisso deve ser estabelecido entre E.F. e a frequência analítica (4).

O sentido do fluxo de eluição na coluna de pré-concentração é um fator importante. O sentido reverso do fluxo entre a pré-concentração e a eluição é necessário para evitar o enchimento não uniforme da coluna. Isto deve diminuir o efeito da dispersão durante a eluição e dá maiores fatores de enriquecimentos.

Nos procedimentos discretos para a pré-concentração com colunas, a operação de lavagem da coluna, geralmente envolve duas etapas: antes e após a pré-concentração da amostra. As colunas são condicionadas com uma solução tampão num pH necessário para a etapa de coleta da amostra antes da pré-concentração e, então lavadas novamente com água depois da etapa de coleta para remover a amostra residual antes da eluição (4).

Fang et al. (101) estudaram o efeito de diferentes tratamentos de lavagens em colunas nos sistemas de pré-concentração em fluxo com Espectrometria de Absorção Atômica por Chama. Eles concluíram que o condicionamento da coluna após a etapa de pré-concentração não altera a sensibilidade e a precisão do método desde que as amostras sejam tamponadas durante a etapa de coleta. Neste caso, a solução da amostra terá a mesma função de condicionar a coluna com uma solução tampão. O condicionamento da coluna é frequentemente necessário nas determinações espectrofotométricas para contornar o efeito de matriz. As etapas de lavagens também são indispensáveis para as determinações por Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite e por Plasma Indutivamente Acoplado onde os efeitos de alguns elementos exercem grande interferência na espécie analítica. Embora pequenas colunas sejam usadas, o uso de matrizes com alto teor salino, como amostras de água de mar, gera forte sinal de absorção de fundo, sendo portanto imprescindível o condicionamento da coluna após a etapa de eluição.

III - Parte Experimental

III - 1 - Instrumentação

O sistema analítico de injeção em fluxo é constituído de uma bomba peristáltica Gilson, modelo Minipuls 3 com 8 canais, para o bombeamento da amostras e reagentes. As soluções são impulsionadas utilizando tubos de Tygon (Technicon) para o bombeamento, com capacidade de vazão de fluido adequada para cada solução. Tubos de polietileno de 1,0 mm de diâmetro interno são usados para a construção do sistema de fluxo. A unidade de comutação para a introdução das amostras é um injetor tipo proporcional⁽¹⁰⁷⁾ feito de acrílico. Para a confluência dos reagentes são utilizados conectores, também construídos de acrílico.

Para a separação do hidreto formado é utilizado um separador gás - líquido do tipo varredura⁽¹⁰⁸⁾, feito de acrílico como mostrado na Figura III.1. Os orifícios de entrada da mistura (hidreto gasoso + fração líquida) e de saída da fração líquida estão na mesma altura, ocasionando assim a presença de um pequeno volume do resíduo líquido (volume de residência = 200 μL) no interior do separador. A saída da fração líquida aspirada pela bomba peristáltica evita a passagem da mesma ao atomizador. O hidreto de selênio gerado é separado da fase líquida no separador gás - líquido, sendo transportado ao atomizador usando N_2 como gás de arraste com vazão controlada por um regulador de vazão de gás (Vogtlin).

O atomizador eletrotérmico é construído com tubos de quartzo (Figura III.2), onde o tubo (a) funciona como câmara de atomização de 17 cm de comprimento e 0,8 cm de diâmetro interno⁽¹⁰⁸⁾. O atomizador, tubo (a), é enrolado com 2,5 metros de fio Ni-Cr (resistividade = $6,9 \text{ ohm}^{-1}$) e, a seguir, com fio de amianto para o isolamento térmico. Para a atomização do hidreto de selênio é necessária uma temperatura adequada, obtida através da resistência de Ni-Cr conectada a um regulador de voltagem, Varivolt. Para

minimizar a troca de calor com o ambiente. o atomizador foi envolto com uma capa de alumínio.

As medidas de absorvância foram feitas em um Espectrofômetro de Absorção Atômica. Intralab, modelo Gemini AA 12 / 1475, equipado com lâmpada de cátodo oco de selênio e corretor de fundo (lâmpada de deutério) ligado para corrigir o sinal analítico. As leituras de absorvância são feitas em 196 nm com abertura de fenda 0,5 nm, corrente de lâmpada de 10 mA. Os picos transientes são obtidos usando-se uma impressora Epson LX-800.

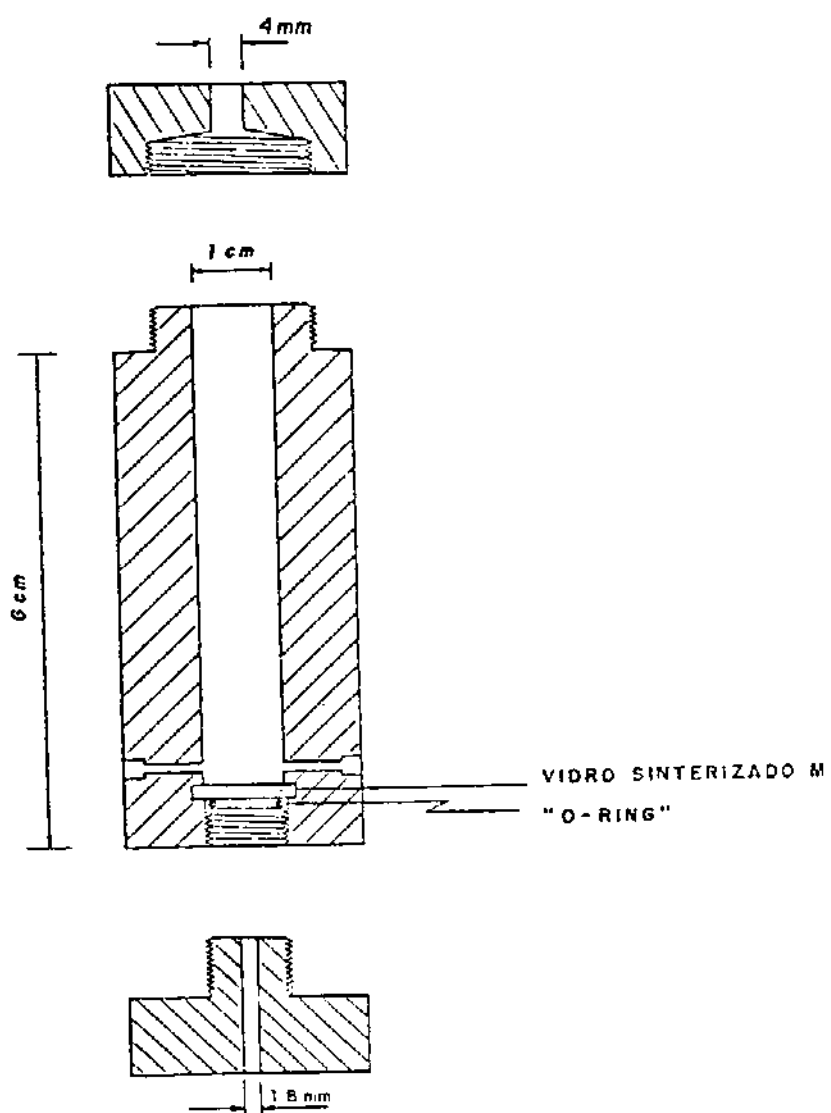


Figura III.1 - Separador gás-líquido, tipo varredura (108).

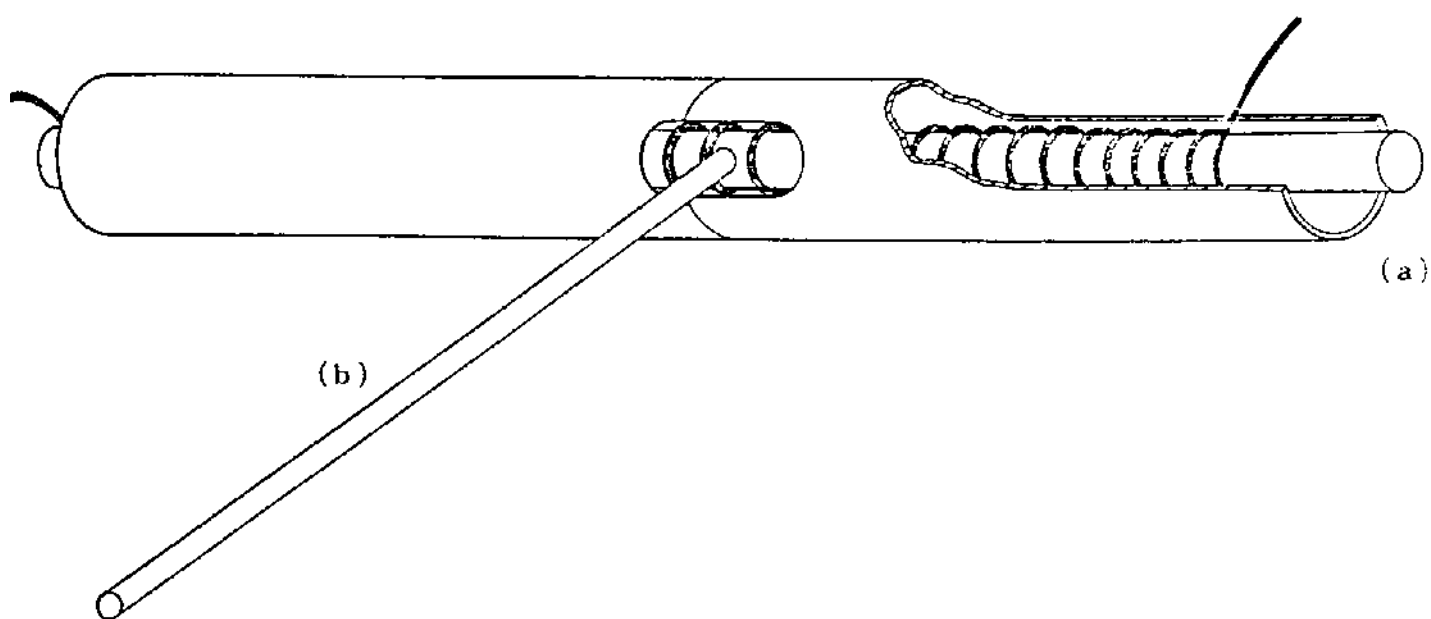


Figura III.2 - Atomizador eletrotérmico utilizado para a atomização do hidreto de selênio (108).

III - 2 - Sistema por Injeção em Fluxo

A configuração do sistema F.I.A., empregado na determinação de selênio está representada na Figura III.3. É utilizado o sistema de zonas coalescentes em confluência que consiste em introdução simultânea de volumes iguais de amostra e de reagente redutor, em fluxos de carregadores separados de mesma vazão, para garantir a perfeita mistura das soluções. Neste caso, 100 μL de amostra e de agente redutor (NaBH_4 0,4%) são introduzidos em linhas de carregadores de ácido clorídrico (1,0 mol/L) e água desionizada com vazões de 1,4 ml./min, respectivamente.

Para o estudo de interferentes na fase líquida uma mini-coluna contendo 50 mg de resina de troca catiônica (Dowex 50W-X8) foi acoplada em linha no sistema F.I.A. como mostra a Figura III.4. Neste caso, a resina de troca catiônica é capaz de reter os cátions metálicos (M^{+n}) deixando passar o selênio que está na forma de ânion (SeO_3^{-2}). A concentração de ácido clorídrico foi otimizada para separar o selênio dos íons interferentes, e posterior formação do hidreto na redução com NaBH_4 . Para a geração quantitativa do hidreto de selênio uma linha, em confluência, transportando HCl 6,0 mol/L foi adicionada ao sistema F.I.A. antes de misturar com a solução 0,4% de NaBH_4 (Figura III.4). A fim de minimizar os efeitos dos íons interferentes na fase gasosa foi adicionada tiouréia, como mascarante auxiliar, à solução do ácido clorídrico 1,0 mol/L.

A configuração do sistema F.I.A. empregado na pré-concentração de selênio (Figura III.5) é proveniente de modificações do sistema da Figura III.3. O procedimento utilizado para a pré-concentração e determinação de selênio pode ser descrito da maneira a seguir:

- Inicialmente, o injetor proporcional é comutado para a posição de eluição, possibilitando que a coluna seja equilibrada com o eluente.
- A seguir o injetor é comutado para a posição de pré-concentração. A amostra [Se (IV) que está na forma de SeO_3^{-2}] é introduzida na coluna,

utilizando uma vazão adequada. A espécie analítica de interesse, isto é, Se(IV) é adsorvida no reagente imobilizado na resina, sendo o eluente descartado, ocorrendo também o preenchimento das alças de amostragem com as suas respectivas soluções carregadoras. A solução de tiouréia utilizada como eluente se dirige ao percurso analítico, ocorrendo o seu descarte.

- Posteriormente, o injetor é comutado novamente para a posição de eluição. Durante esta etapa ocorre a eluição do selênio adsorvido na coluna. À medida que os íons eluídos são transportados através da alça de amostragem para o descarte, o reagente (NaBH_4) se dirige à alça de amostragem.

- Com a comutação do injetor para a posição seguinte a alça de reamostragem, a amostra e o reagente são adicionados ao sistema via zonas coalescentes. O ciclo é reiniciado com o retorno da coluna à etapa de pré-concentração.

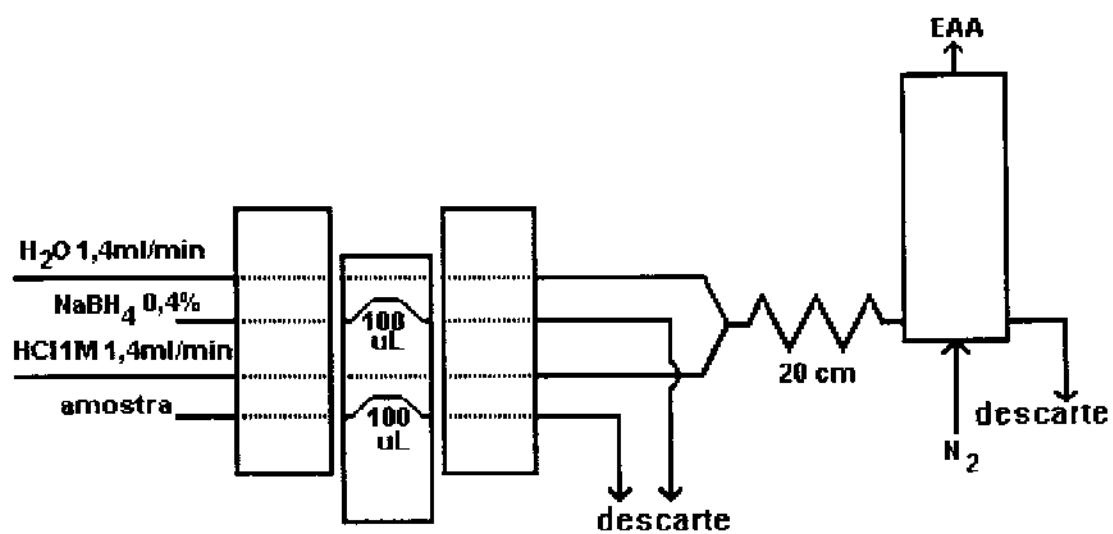


Figura III.3 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para a determinação de selênio.

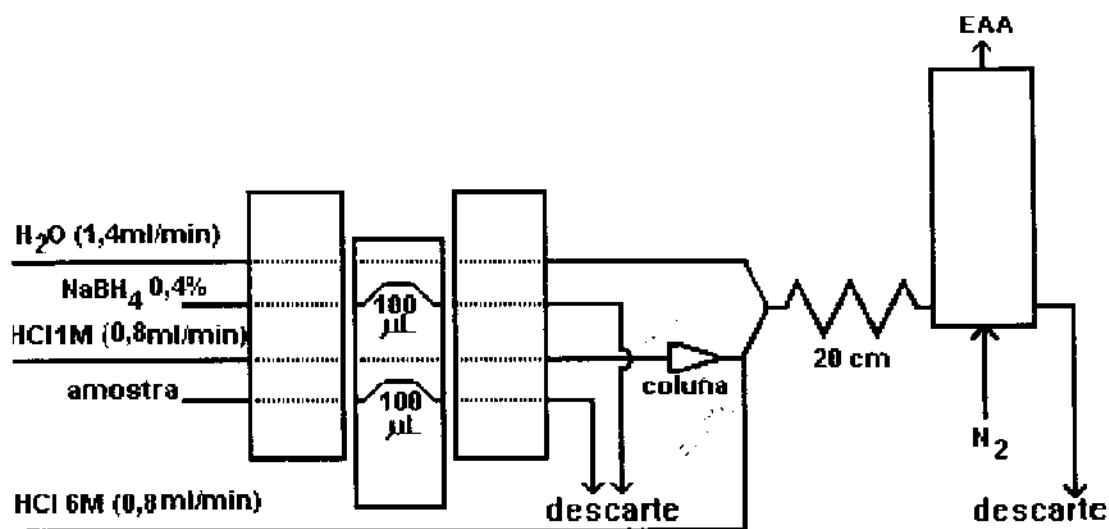


Figura III.4 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência utilizado para reduzir o efeito de interferentes na determinação de selênio.

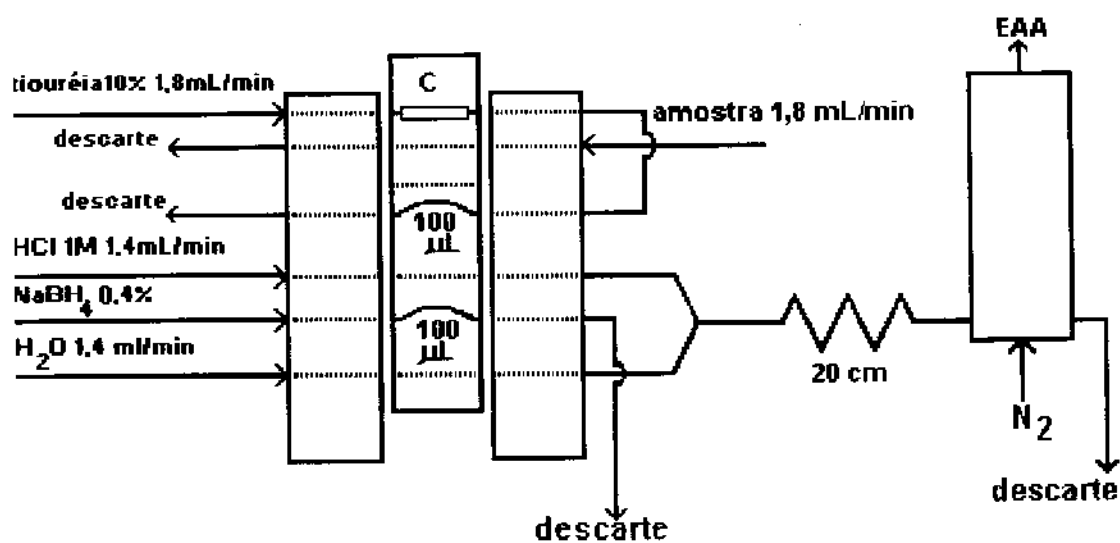


Figura III.5 - Sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência e reamostragem utilizado para a pré-concentração e determinação de selênio. C, coluna de pré-concentração Dowex 1X8/Bismutiol I ($\phi_j = 2\text{mm}$, $h = 4,5\text{ cm}$).

III - 3 - Preparação e Calibração do Atomizador

O atomizador é lavado com HF (1:10, v/v) durante um tempo de 10-15 minutos e, após, com água desionizada. Depois de seco, o atomizador é preenchido com solução silanizante (diclorodimetilsilano 5% (m/v) em tolueno), por aproximadamente 5 horas. Tal tratamento evita a presença de sítios ativos que catalisam a recombinação de radicais H e OH durante o mecanismo de atomização. Depois da silanização, o atomizador é seco em estufa a 110^oC, durante aproximadamente 12 horas. Finalmente, uma corrente de nitrogênio é passada por 5 minutos, para remoção de resíduos de material orgânico. A operação de limpeza e silanização foi repetida a cada 1000 determinações^(*) aproximadamente, porque havia perda do sinal analítico devido à decomposição do hidreto nas paredes do atomizador.

De acordo com a literatura, para a atomização do hidreto de selênio é necessária uma temperatura de aproximadamente 800^oC. Para determinar a temperatura no interior do atomizador variou-se a voltagem do Varivolt e com um pirômetro de Cr-Al, Engro, Modelo 455 L, a temperatura foi determinada em diferentes posições, a partir do ponto central, na presença da capa de alumínio.

III - 4 - Reagentes e padrões

As soluções utilizadas neste estudo foram preparadas usando água desionizada e reagentes de grau analítico, usando balões volumétricos para o acerto de volumes finais. Frascos de polietileno foram empregados na estocagem das soluções.

- Solução - padrão de Selênio: Preparada a partir de 1,4040 g de dióxido de selênio (SeO₂ - Riedel) em 1 litro de água. As soluções padrão de selênio, de concentrações variáveis entre 0 a 100 ng/mL, foram obtidas por diluição

^(*)Este número foi estimado comparando o sinal analítico para o selênio utilizando o atomizador recém-silanizado e o sinal analítico após aproximadamente 1000 determinações com o atomizador silanizado.

adequada de uma solução estoque de 10,0 µg/mL de selênio, com solução de HCl 1,0 mol/L. Estas diluições foram feitas empregando-se microbureta de vidro.

- Solução de borohidreto de sódio 0,40% (m/v): Preparada por dissolução de 0,40 g de NaBH₄ (Merck) em 100,0 mL de KOH (Merck) 0,05 mol/L.

- Solução de ácido clorídrico: Preparada a partir de HCl concentrado (Merck) por diluição adequada para a obtenção da concentração desejada.

- Solução de ácido clorídrico 0,1 mol/L/ tiouréia 0,5%: Preparada por dissolução de 0,5 g de tiouréia (Merck) em 100,0 mL de Ácido Clorídrico 0,1 mol/L.

- Solução de tiouréia 10%: Preparada por dissolução de 10,0 g de tiouréia (Merck) em 100,0 mL de água desionizada.

- “Coquetel” de mascarantes contendo tiouréia 0,5%, tiosemicarbazida 0,5% e HCl 1,0 mol/L: preparada por dissolução de 0,5 g de tiouréia (Merck) e 0,5 g de tiosemicarbazida (Merck) em 100,0 mL de ácido clorídrico 1,0 mol/L.

- Soluções de HNO₃, HCl e H₂SO₄ concentrados utilizados para abertura das amostras foram das seguintes marcas: HNO₃ (Carlo Erba), HCl (Merck) e H₂SO₄ (Merck).

III - 5 - Coluna de troca catiônica para o controle de interferentes

A resina de troca catiônica Dowex 50W-X8 (50 mg) foi adicionada num tubo cônico (ponta de pipeta Eppendorf) de polietileno de 2,0 cm de comprimento. Para reter a resina dentro da coluna foi colocada lã de vidro

nas duas extremidades do tubo. A coluna recheada foi acoplada ao sistema de injeção em fluxo.

III - 6 - Impregnação do Bismutiol I na resina aniônica

Um grama de resina de troca aniônica (Dowex 1X8) foi adicionada à solução aquosa de 0,3 mmoles de Bismutiol I. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora. A resina contendo o Bismutiol I foi filtrada, seca a vácuo e guardada em frasco escuro para o enchimento das colunas. A percentagem de impregnação foi avaliada quantificando o sobrenadante resultante da impregnação por Espectrofotometria de Absorção Molecular utilizando o Espectrofotômetro Varian, modelo Cary 2300 ($\lambda = 327\text{nm}$) e comparando-o com soluções padrão de Bismutiol I de concentrações conhecidas.

III - 7 - Coluna para a Pré-concentração

A coluna de pré-concentração foi preparada utilizando um tubo de vidro (diâmetro interno – 2 mm; comprimento – 4,5 cm) contendo lã de vidro nas extremidades. A quantidade de material (resina - Bismutiol I) dentro da coluna é de aproximadamente 100 mg. Durante o uso, a coluna foi envolta em papel alumínio para minimizar a fotodecomposição do material.

III - 8 - Estudo das Variáveis do Sistema de Análise por Injeção em Fluxo e Geração de Hidreto

Para o desenvolvimento de novos métodos analíticos, bem como no melhoramento daqueles já estabelecidos, estudam-se as variáveis que exibem um efeito significativo que podem ser ajustadas para melhorar os resultados do método.

O método de otimização aqui utilizado é o método univariado, ou seja, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em um certo nível,

menos um deles. Este último é, então, variado até que se encontre a melhor resposta, passando, então, esta condição a ser fixada e novo fator sofre variação, até que todos os fatores estejam adequados para dar a melhor resposta.

Inicialmente, buscou-se otimizar as variáveis envolvidas no sistema F.I.A. e na técnica de geração de hidreto visando a determinação de selênio sem a etapa de pré-concentração. As condições experimentais foram pré-estabelecidas por dados já existentes na literatura ⁽⁵⁴⁾ e à medida em que as variáveis foram sendo otimizadas, os valores otimizados eram adotados.

Os resultados foram avaliados considerando como os parâmetros estudados influenciaram a sensibilidade e a reprodutibilidade do sinal analítico.

As variáveis envolvidas no sistema F.I.A. de zonas coalescentes em confluência e na técnica de geração de hidreto são:

- volume de amostra e de reagente redutor (NaBH_4)
- comprimento da bobina de reação
- vazão dos carregadores
- concentração de ácido carregador da amostra
- concentração de NaBH_4
- vazão do gás de arraste
- altura do reator-separador
- temperatura de atomização do hidreto de selênio.

O estudo das variáveis envolvidas no sistema F.I.A. e na pré-concentração de selênio foi feito somente para as variáveis que afetam diretamente a pré-concentração e eluição do selênio. Neste caso, as variáveis estudadas no sistema de Análise por Injeção em Fluxo e geração de hidreto sem a etapa de pré-concentração foram mantidas nos seus níveis otimizados.

As principais variáveis envolvidas no sistema para a pré-concentração e eluição de selênio são:

- impregnação do Bis I na resina de troca aniônica (Dowex 1X8)
- vazão e tempo de pré-concentração
- vazão e tempo de eluição
- natureza e concentração do eluente
- condições de acidez da solução amostra para a pré-concentração
- tamanho e tempo de durabilidade da coluna

Portanto, uma escolha adequada dos parâmetros operacionais foi necessária buscando-se maior eficiência do processo de pré-concentração e maior sensibilidade para o método proposto.

III - 9 - Amostras

De acordo com os objetivos deste trabalho, foi feita a determinação de selênio em matrizes bastante distintas entre si. Desta forma, foi necessário preparar cada amostra de acordo com suas particularidades. As amostras

analisadas foram comparadas com a prova em branco, processada nas mesmas condições da amostra.

Amostras de interesse clínico:

A) Amostras de Medicamentos:

Pesou-se aproximadamente 0.1 g (com precisão de $\pm 0,0001$ g) do medicamento, dissolvido em 10 mL de HNO_3 concentrado e evaporado até quase secura. A seguir, foi adicionado 3 mL de HCl concentrado e a amostra foi aquecida novamente, até quase a secura. Foram adicionadas 3 alíquotas de 3 mL de HCl 1,0 mol/L seguidas de aquecimento, para o condicionamento do meio. Com a obtenção de solução límpida, incolor, a mesma foi diluída a 25,00 mL com HCl 1,0 mol/L. Após diluição adequada, a concentração de selênio foi determinada utilizando o método desenvolvido e comparado com o método Espectrométrico de Absorção Atômica com Forno de Grafite, utilizando níquel (nitrato de níquel) como modificador químico. Neste caso, as soluções padrão e as amostras foram diluídas em HNO_3 0,2% (v/v).

B) Amostras de Urina:

- Material de referência certificado (NIST-SRM 2670): As amostras de urina de padrão certificado (nível normal e nível elevado de selênio) foram reconstituídas, adicionando 20,00 mL de água desionizada em cada frasco. As alíquotas de 10,00 mL das amostras foram digeridas em duplicatas. A alíquotas de 10,00 mL de urina para cada nível de selênio foram adicionados 10 mL de HNO_3 concentrado. As amostras foram aquecidas até quase a secura, quando foram adicionados 3 mL de HCl concentrado e, então, evaporadas novamente até quase secar. A seguir, o volume foi elevado a 10,00 mL com HCl 1,0 mol/L para a urina de nível normal de selênio e 25,00 mL para a amostra de urina de nível elevado de selênio. As soluções

foram medidas, determinando-se a concentração de selênio na urina. Os resultados foram comparados com o valor de referência fornecido no certificado (Apêndice B - Tabela VII-1).

- Amostras de urina com dopagem: As amostras de urina foram coletadas e, em seguida, foram adicionadas quantidades conhecidas de selênio (1,0 ng/mL e 10,0 ng/mL) e 10 mL de HNO₃ concentrado. As amostras foram aquecidas até quase a secura, quando foram adicionados 3 mL de HCl concentrado e, então, evaporadas novamente até quase secar. A seguir, o volume foi elevado a 25,00 mL com HCl 1,0 mol/L e as soluções foram medidas determinando-se a concentração de selênio na urina.

- Amostras de urina de pacientes submetidos a uma dose única de medicamento contendo selênio: Os pacientes submetidos ao estudo ingeriram uma dose única (350 mg) de medicamento - Beta caroteno. As amostras de urina foram coletadas nos seguintes tempos: 0 hora, isto é, antes da ingestão do medicamento. Após ingestão do medicamento: 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 e 72 horas. Às amostras foram adicionadas 10 mL de HNO₃ concentrado e, então aquecidas até quase secura. Em seguida, foram adicionadas 3 mL de HCl concentrado e novamente, foram evaporadas até quase secura. A seguir, o volume foi elevado a 25,00 mL com HCl 1,0 mol/L e as soluções foram medidas determinando-se a concentração de selênio na urina.

Amostras de interesse metalúrgico

Foi pesado aproximadamente 0,1 g (com precisão de $\pm 0,0001$ g) da amostra de aço, dissolvido com 10 mL de HNO₃ concentrado e aquecimento. Depois de evaporado o ácido nítrico, adicionou-se 5 mL de HCl concentrado. A solução foi aquecida até quase secura e o tratamento com HCl (5 mL) foi repetido. A seguir, diluiu-se a amostra a 100,0 mL com HCl 1,0 mol/L e mediu-se a absorvância, comparando se o resultado com o

valor de referência fornecido no certificado NIST (Apêndice B - Tabela VII-2).

Amostras de Interesse Ambiental

Para o estudo da aplicação do método em amostras de interesse ambiental, o procedimento foi usado em análises de água de mar da região de Ubatuba e amostras de água de mar sintética (Apêndice B). A amostra de água de mar real foi filtrada em um funil de teflon contendo uma membrana de celulose de porosidade 0,45 μm e, em seguida, o acondicionamento da amostra de água de mar real foi feito adicionando HCl 1,0 mol/L até pH=2,0. A amostra foi estocada em frasco de polietileno. Para as amostras de água de mar sintética dopadas com selênio, foram adicionadas quantidades conhecidas de solução padrão de selênio e o meio foi ajustado para obtenção de uma solução final contendo HCl 1,0 mol/L.

Amostras de interesse agrônômico

As amostras fornecidas pelo IAC (Instituto Agrônômico de Campinas) foram tratadas da maneira a seguir: 1,0000g do material vegetal, seco e finamente moído foi adicionada a 25 mL de HNO₃ concentrado, seguida de aquecimento. Após a digestão prévia com HNO₃, adicionou-se H₂SO₄ concentrado, onde ocorreu a formação de um precipitado branco. A amostra foi aquecida novamente até quase a secura, então, adicionou-se 10 mL de HCl 1,0 mol/L. Quando a amostra estava quase seca, foi retirada da chapa de aquecimento e filtrada em um funil de vidro contendo lã de vidro silanizada a fim de retirar os resíduos de sílica resultantes do processo de digestão da matéria orgânica. O volume foi completado a 100,0 mL com HCl 1,0 mol/L. As soluções foram medidas determinando-se a concentração de selênio nas amostras de plantas. Os resultados foram comparados com os valores fornecidos pelo Internacional Plant Analytical Exchange Programme (IPE) - Holanda.

IV - Resultados e Discussões

IV . 1 - Testes Preliminares

A temperatura de atomização para um determinado hidreto é uma característica particular de cada elemento. Assim, quando se utiliza a técnica de geração de hidretos para a determinação de uma certa espécie, um dos parâmetros a ser estudado é a temperatura de atomização.

Neste estudo, o atomizador utilizado é um tubo aberto, portanto, tornou-se necessário verificar a temperatura em diferentes pontos de seu interior. O fio de Ni-Cr (resistividade = $6,96 \Omega\text{m}^{-1}$) foi enrolado sobre os 13 cm centrais do tubo de quartzo (Parte Experimental - Figura III.2). Os 2 cm restantes em cada extremidade foram mantidos sem o fio, visando uma diminuição de temperatura nestas áreas, porque quando se utiliza uma cela de atomização com extremidades abertas podem ocorrer sinais de absorção devido à ignição da mistura H_2 - ar nas extremidades da cela (109).

A Figura IV.1 mostra o perfil da temperatura obtido com o atomizador de quartzo na presença da capa de alumínio. Como se observa nesta figura, a temperatura sofre um leve abaixamento no ponto central do tubo ocasionado pela junção dos dois segmentos do atomizador que conduz a mistura do hidreto gasoso e N_2 . À medida que se distancia do ponto central ocorre o aumento de temperatura sendo que nas extremidades da cela a temperatura torna-se menor. O mesmo perfil de temperatura foi obtido quando um fluxo de nitrogênio com vazão de 150 mL/min foi passado pelo atomizador.

Neste trabalho, o reator-separador gás-líquido utilizado é um separador do tipo varredura (Figura III.1) onde os orifícios de entrada da mistura (hidreto gasoso + fração líquida) e de saída da fração líquida estão na mesma altura, ocasionando assim a presença de um pequeno volume do resíduo líquido (volume de residência = 200 μL) no interior do reator-separador.

A saída da fração líquida, aspirada pela bomba peristáltica evita a passagem da mesma ao atomizador. O gás N_2 é introduzido na parte inferior do separador através de uma placa de vidro sinterizado e “varre” o hidreto

formado para a câmara de atomização onde ocorre a decomposição do hidreto para formar seus átomos metálicos em fase gasosa. Quando ocorre a atomização, o sinal de absorção atômica obtido é proporcional ao número de átomos do vapor atômico. Desta maneira, a absorbância obtida é proporcional à concentração de selênio na amostra.

Os testes iniciais para a determinação de selênio foram feitos com o sistema F.I.A. em zonas coalescentes, similar ao usado por Cadore⁽¹⁰⁸⁾ para a determinação de bismuto. Como os resultados obtidos mostraram-se promissores, tanto em termos de sensibilidade como de repetibilidade, este sistema foi adotado. Com base nestes resultados, foi feito um estudo visando a otimização das variáveis que afetam o sistema F.I.A. e a técnica de geração de hidretos. Os estudos foram feitos para três diferentes concentrações de selênio (30, 60 e 90 ng/mL). Para cada concentração de selênio foram injetados volumes de amostra e de reagente (NaBH_4) em três replicatas.

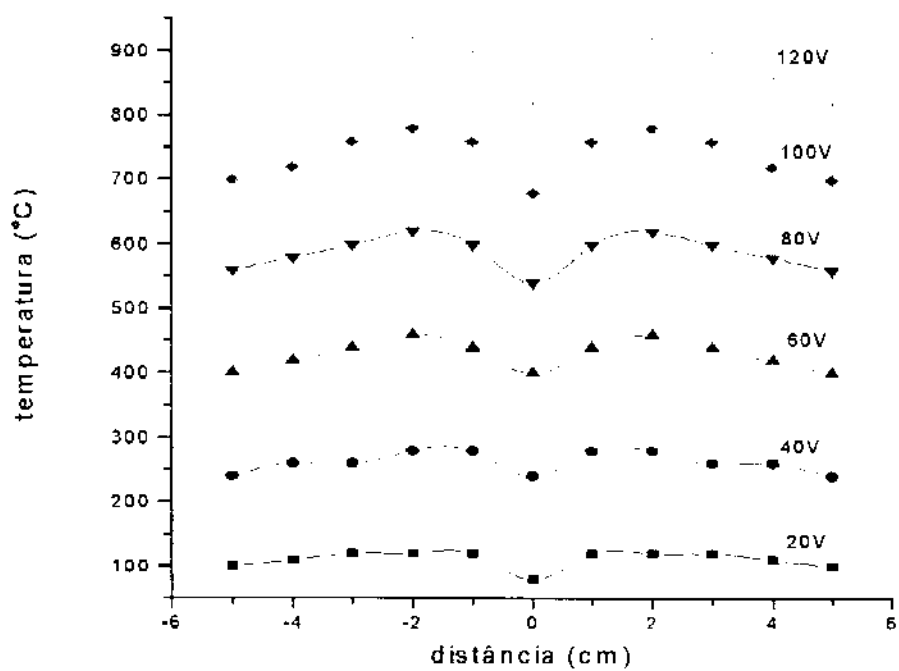


Figura IV.1: Perfil de temperatura obtido com o atomizador de quartzo na presença da capa de alumínio.

IV . 2 - Otimização dos parâmetros no sistema F.I.A. e Geração de Hidreto

Para o desenvolvimento do método proposto foi considerado, inicialmente, como referência os trabalhos de Agterdenbos et al. (54). Neste trabalho, o hidreto de selênio é gerado em meio ácido. Assim, no desenvolvimento deste método o ácido clorídrico foi utilizado como carregador da amostra. Segundo Agterdenbos et al. (54), as concentrações ótimas das soluções de NaBH_4 e de HCl são 1% (m/v) e 1,0 mol/L, respectivamente. Portanto, estes valores foram adotados para estas duas variáveis. Para as demais variáveis foram adotados os seguintes valores: a vazão de N_2 foi de 120 mL/min, as vazões dos carregadores da amostra (HCl) e do reagente borohidreto de sódio (água desionizada) foram de 1,2 mL/min; a temperatura de 800°C foi utilizada para atomizar o hidreto de selênio e a altura do reator-separador foi de 6 cm.

Inicialmente, estas condições experimentais foram estabelecidas e à medida em que as variáveis foram sendo otimizadas no método proposto, os valores otimizados eram adotados.

IV . 2 . a - Efeito da bobina de reação

Considerando que o hidreto de selênio é formado quando a amostra acidificada entra em contato com a solução de borohidreto de sódio, um dos parâmetros estudados foi o tempo necessário para esta reação.

O tempo de reação foi estudado em função do comprimento da bobina de reação. As bobinas de reação de diferentes comprimentos (enroladas sobre um tubo de 1 cm de diâmetro), foram testadas em função da quantidade de amostra e de reagente redutor (NaBH_4) introduzidos no sistema F.I.A. Para cada concentração de selênio (30, 60 e 90 ng/mL) foram testadas cinco bobinas de reação de 10 , 20 , 30, 50, e 80 cm de comprimento e, para cada uma das bobinas, foram introduzidos cinco volumes de amostra e de reagente redutor (50, 75, 100, 150 e 200 μL).

A absorvância é maior para a bobina de 20 cm, diminuindo quando o tempo de reação aumentou, devido à dispersão sofrida pela amostra no percurso analítico. A Figura IV.2 mostra o efeito do comprimento da bobina de reação para um volume de 100 µL de selênio e de borohidreto de sódio. O mesmo comportamento foi observado para os demais volumes. Assim, considerando-se a repetibilidade e a sensibilidade, foi usada a bobina de reação de 20 cm para a continuidade deste trabalho.

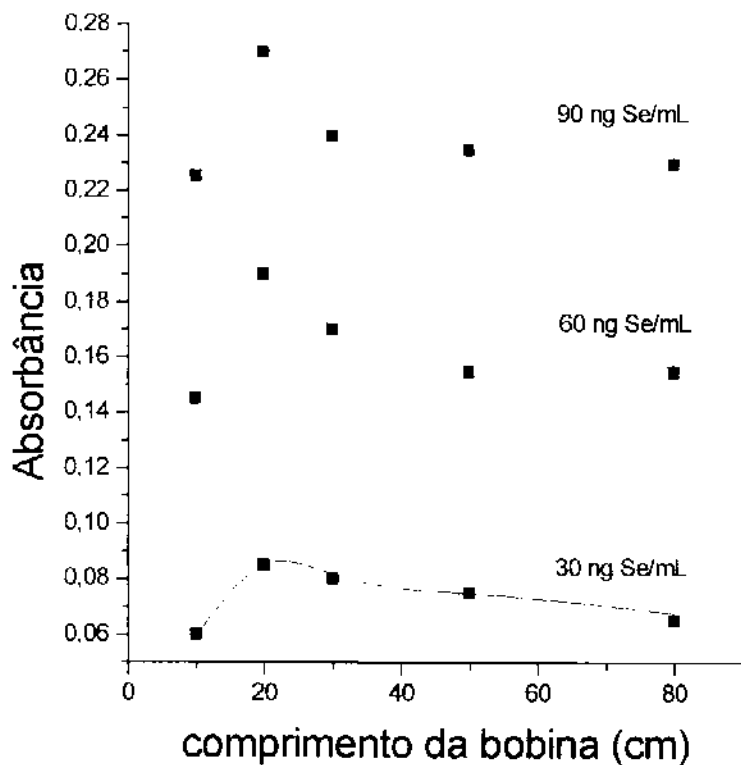


Figura IV.2: Efeito do comprimento da bobina de reação na determinação de selênio.

Condições experimentais: Concentração de NaBH_4 : 1% (m/v);
 Concentração de HCl : 1,0 mol/L; volume injetado: 100 μL ; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800⁰C; altura do separador: 6 cm.

IV . 2 . b - Efeito do volume injetado

O efeito do volume injetado (amostra e reagente) é mostrado na Figura IV.3. Observou-se que o sinal de absorvância aumentou com o volume de amostra e de redutor, sendo que o sinal foi maior para o volume de 100 μL , mantendo-se constante para volumes maiores. Neste caso, para volumes de amostra e de redutor maiores que 100 μL , o tempo necessário para o retorno do sinal à linha de base é maior e, conseqüentemente, a freqüência de injeção é menor.

Foi estabelecido que o melhor volume, utilizando a bobina de 20 cm, é obtido para amostras e reagente com volume igual a 100 μL .

IV . 2 . c - Efeito da concentração de NaBH_4

O efeito de diferentes concentrações de borohidreto de sódio na sensibilidade do método analítico foi verificado injetando-se um volume constante de diferentes concentrações do redutor, no intervalo de 0,10 a 5,0% (m/v).

De acordo com a Figura IV.4, a absorvância aumentou até 0,4% de NaBH_4 e depois, diminuiu. Este comportamento foi verificado quando quantidades crescentes de selênio foram introduzidas no sistema. Isto mostrou que a introdução de 100 μL de uma solução 0,4% de NaBH_4 foi suficiente para reduzir o selênio, independente de sua quantidade. Quando maiores concentrações de NaBH_4 eram utilizadas, observou-se que além da geração do hidreto de selênio, ocorria a formação de grande quantidade de hidrogênio. Este excesso de H_2 gerado provocava uma menor repetibilidade dos sinais obtidos, assim como a diluição do hidreto de selênio. Desta maneira, considerou-se conveniente a utilização de uma solução de 0,4% de borohidreto para a continuidade do trabalho.

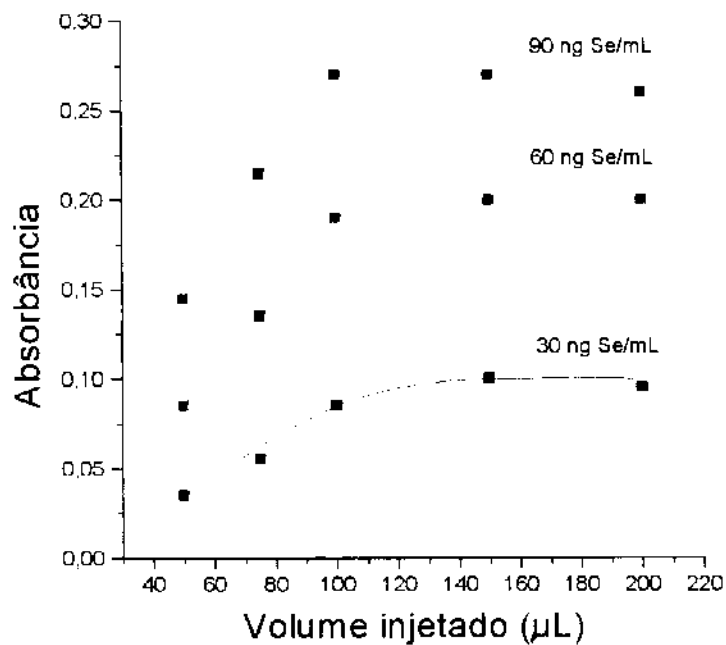


Figura IV.3: Efeito do volume injetado na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 1% (m/v); concentração de HCl : 1,0 mol/L; bobina de reação: 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800°C ; altura do separador: 6 cm.

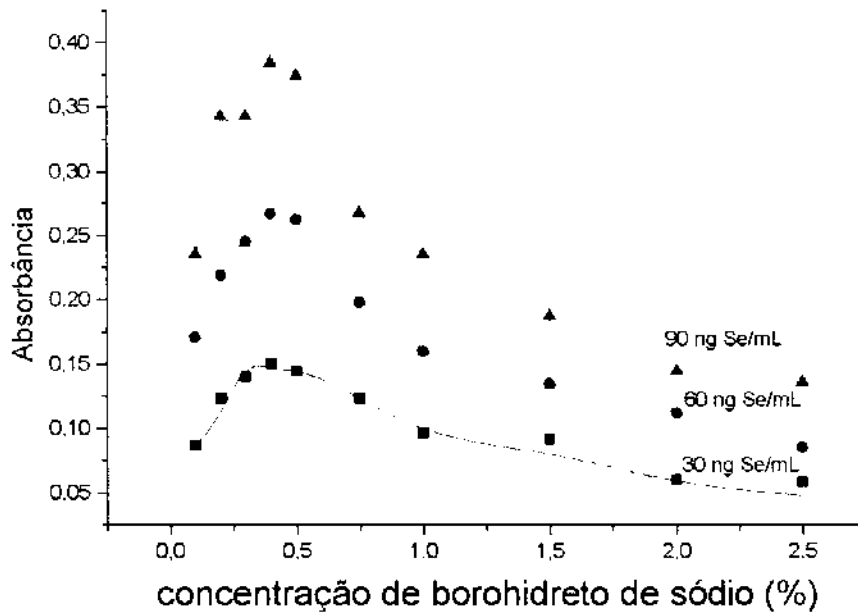


Figura IV.4 : Efeito da concentração de NaBH₄ na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de HCl: 1,0 mol/L; volume injetado: 100 µL; bobina de reação: 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800⁰C; altura do separador: 6 cm.

IV . 2 . d - Efeito da concentração de HCl

O efeito da concentração de ácido clorídrico na geração do hidreto de selênio foi testado para as concentrações de HCl na faixa de 0,25 a 5,0 mol/L, utilizando soluções padrão contendo 30, 60 e 90 ng de selênio/mL. A concentração de ácido usada na linha do carregador foi de mesma concentração utilizada no preparo das amostras. Observou-se um aumento de absorvância até a concentração de 2,0 mol/L de HCl, permanecendo quase constante a absorção para maiores concentrações de HCl, conforme é mostrado na Figura IV.5. Estes resultados concordam com os obtidos por Agterdenbos et al. ⁽⁵⁴⁾ que apesar do hidreto necessitar de meio ácido para ser formado, não é necessário uma acidez muito alta. Desde que não há grandes diferenças no sinal de absorvância para o uso de HCl 1,0 mol/L e 2,0 mol/L, foi adotada a concentração de HCl de 1,0 mol/L na linha do carregador e no preparo das amostras.

IV . 2 . e - Efeito de diferentes ácidos

Embora os trabalhos propostos na literatura ⁽⁵⁴⁾ recomendem o uso de HCl para acidificação do meio reacional, considerou-se importante verificar o efeito de diferentes ácidos na determinação de selênio, pois estes ácidos podem ser usados no tratamento inicial de uma amostra.

Os efeitos de ácido sulfúrico, nítrico, perclórico e fosfórico em diferentes concentrações; 0,25 mol/L a 3,0 mol/L na linha do carregador e no preparo das amostras, foram testados. A Figura IV.6 mostra o estudo comparativo do efeito destes ácidos.

De acordo com os resultados, o ácido clorídrico foi o que proporcionou o maior sinal analítico. A absorvância praticamente mantém-se inalterada com o uso de diferentes concentrações de ácido sulfúrico.

O mesmo não ocorre com o ácido fosfórico, perclórico e nítrico. Para estes ácidos observou-se o decréscimo no sinal analítico com o aumento da concentração, sendo que com o ácido nítrico o efeito foi mais pronunciado.

O decréscimo na absorvância pode ser explicado, segundo Pierce et al. (58), devido aos grupos oxidantes dos respectivos ácidos reagirem com o agente redutor. Neste caso, o NaBH_4 é consumido na solução e, portanto, a geração do hidreto de selênio é menos efetiva. De acordo com Pierce et al. (58), quanto menor o poder do grupo oxidante do ácido, menor é o efeito de interferência do respectivo ácido. Uma alternativa, proposta por estes autores, seria aumentar a concentração de NaBH_4 , mas, isto causa forte sinal de absorção de fundo devido à grande formação de hidrogênio.

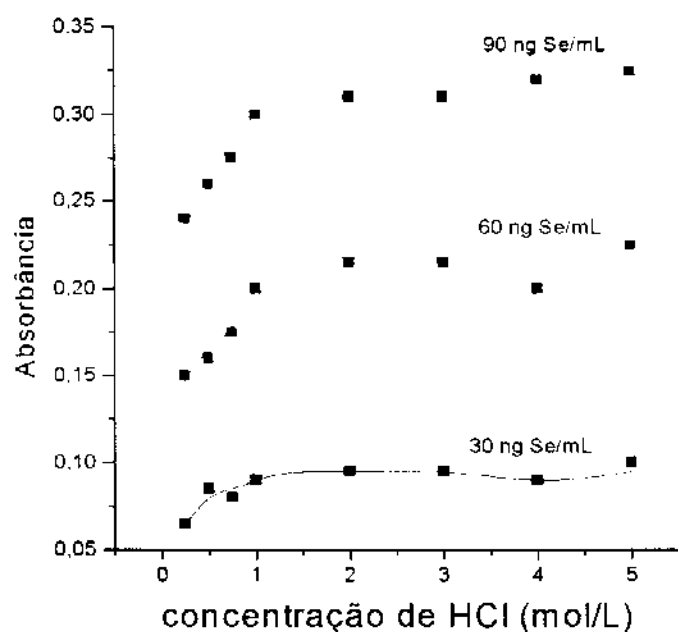


Figura IV.5: Efeito da concentração de HCl na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 0,4% (m/V); volume injetado: 100 μL ; bobina de reação: 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800⁰C; altura do separador: 6 cm.

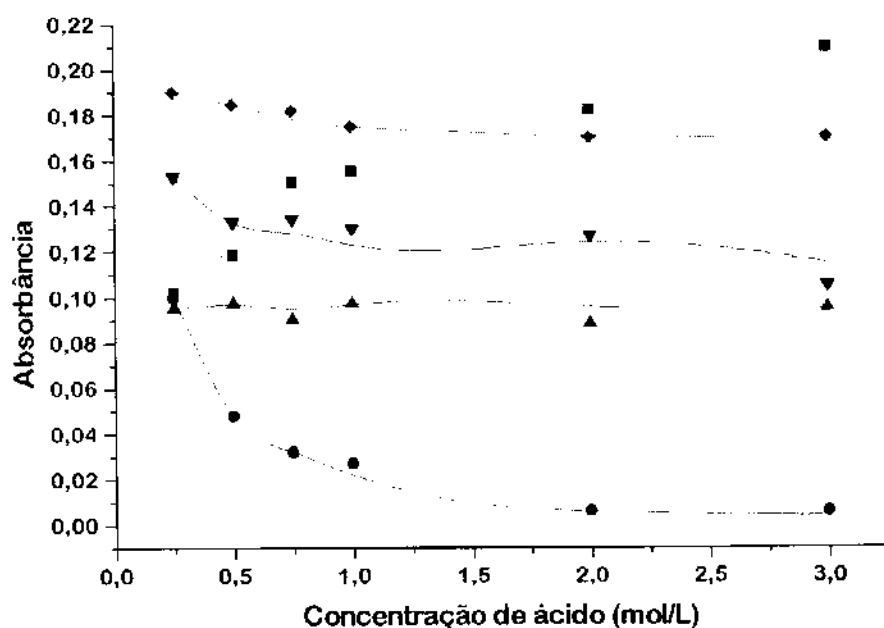


Figura IV.6: Efeito de diferentes ácidos na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH₄: 0,4% (m/v); concentração de HCl: 1,0 mol/L; solução padrão: 50 ng Se/mL; volume injetado: 100 μL; bobina de reação: 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800⁰C, altura do separador: 6 cm.

○ HNO₃ , Δ H₂SO₄ , ▽ H₃PO₄ , ◇ HClO₄ , ◻ HCl

IV . 2 . f - Efeito da altura do reator-separador

Para este estudo foi utilizado o reator-separador, descrito na Figura III.1, sendo que a variação da sua altura foi feita alterando somente a parte intermediária de acrílico. Foram testados três diferentes alturas do reator separador, a saber: 4, 6 e 10 cm.

De acordo com a Figura IV.7, observou-se que aumentando o tamanho do separador de 4 para 6 cm a absorbância aumenta, mostrando que o transporte do hidreto e sua separação da fase líquida é mais efetiva para o separador de 6 cm. Utilizando o separador de 10 cm, a absorbância diminui. Neste caso, o caminho percorrido pelo hidreto é maior e, conseqüentemente, há diluição do hidreto pelo gás de arraste.

Neste estudo foi mostrado que uma fração maior do hidreto de selênio foi separada da mistura, usando o reator-separador de 6 cm.

IV . 2 . g - Efeito do gás de arraste

O efeito da vazão de nitrogênio foi estudado no intervalo de 80 a 250 mL/min (Figura IV.8) utilizando soluções padrão de 30, 60 e 90 ng/mL de selênio em HCl 1,0 mol/L.

Observou-se, experimentalmente, que não havia repetibilidade no sinal analítico e a sensibilidade diminuía para vazões menores do que 150 mL/min. Além disso, os picos F.I.A. obtidos se mostraram distorcidos. Isto mostra que a separação das fases gasosa e líquida era irregular e o transporte do hidreto gerado não era efetivo para vazões menores que 150 mL/min.

Para fluxos maiores do que 150 mL/min a sensibilidade também é diminuída por causa do efeito de diluição do hidreto de selênio no gás de arraste. Assim, mantendo o compromisso com a sensibilidade e a repetibilidade do método, a vazão de 150 mL/min foi considerada a mais adequada para a determinação de selênio.

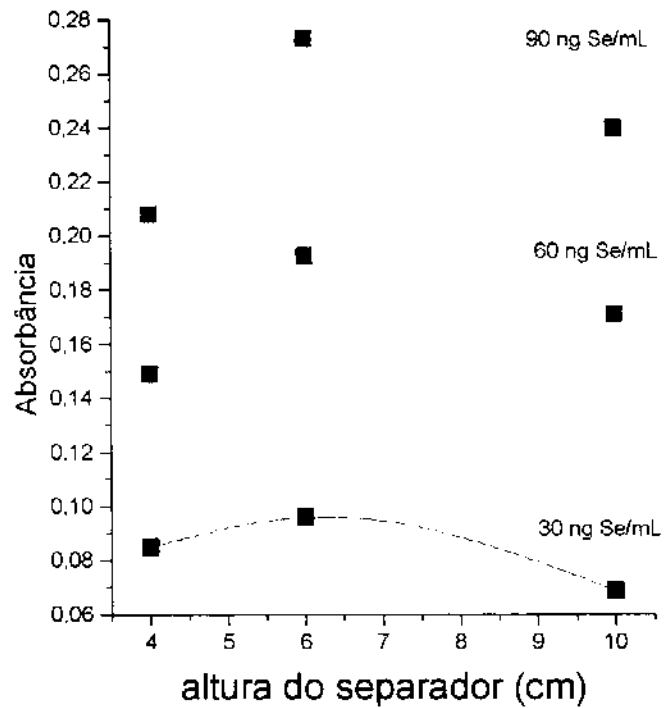


Figura IV.7: Efeito da altura do separador na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 0,4% (m/v); concentração de HCl : 1,0 mol/l; volume injetado: 100 μL ; bobina de reação: 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; vazão de nitrogênio: 120 mL/min; temperatura de atomização: 800⁰C.

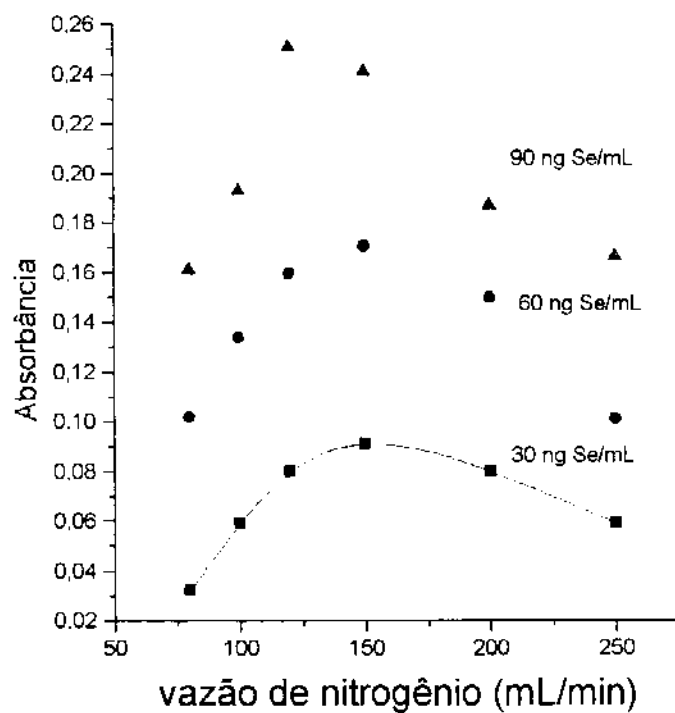


Figura IV.8: Efeito da vazão de nitrogênio na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 0,4% (m/v);
 concentração de HCl : 1,0 mol/L; volume injetado: 100 μL ; bobina de reação:
 20 cm; vazão dos carregadores: 1,2 mL/min; temperatura de atomização:
 800⁰C; altura do separador: 6cm.

IV . 2 . h - Efeito da vazão dos carregadores

O efeito da vazão dos carregadores, ou seja, água desionizada e ácido clorídrico foi avaliado no intervalo de 0,5 a 2,7 mL/min.

Na Figura IV.9 estão os resultados obtidos. Observou-se que a absorvância aumentou até a vazão de 1,5 mL/min. Acima disso, o sinal diminuiu, pois, devido a alta vazão, a amostra e o reagente redutor não tinham tempo suficiente para reagirem antes de alcançarem o reator-separador.

Assim, considerou-se que a vazão de 1,5 mL/min fornecia frequência analítica e sensibilidade adequadas aos objetivos propostos.

IV . 2 . i - Efeito da temperatura de atomização

Desde que cada elemento tem uma temperatura adequada para a atomização, estudou-se a melhor temperatura para a atomização do hidreto de selênio.

A Figura IV.10 mostra que acima de 600⁰ C ocorre a atomização do hidreto de selênio e que sua eficiência aumentou com o aumento de temperatura até 750⁰C. O hidreto gerado é transportado ao atomizador juntamente com o excesso de radicais hidrogênio e o gás de arraste. Os radicais são gerados na reação com o NaBH₄ em meio ácido. Desde que a atomização do hidreto no tubo de quartzo aquecido é devido às colisões com os radicais hidrogênio e que a probabilidade de formação de átomos da espécie analítica de interesse a partir do hidreto gerado é proporcional ao número de colisões com radicais livres, este fato aumenta a eficiência de atomização. Abaixo de 600⁰ C não ocorreu atomização do hidreto em quantidades detectáveis e acima de 750⁰ C a absorvância diminuiu. Um decréscimo na sensibilidade pode ser explicado pela menor eficiência de colisão e menor estabilidade do hidreto, pois de acordo com Welz et al. (53) os hidretos se decompõem às baixas temperaturas. Assim, a temperatura de 750⁰ C foi considerada adequada para a atomização do hidreto de selênio.

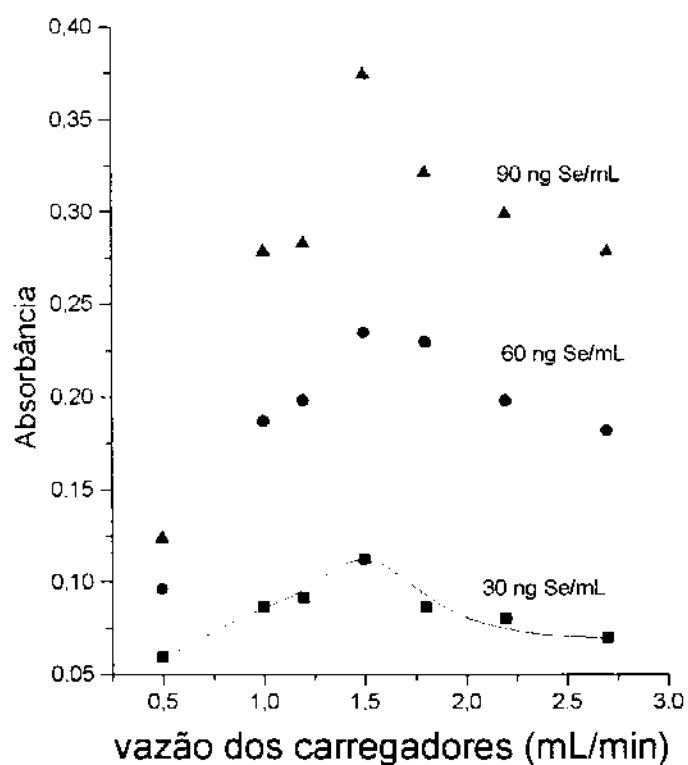


Figura IV.9: Efeito da vazão dos carregadores na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 0,4%(m/v); concentração de HCl : 1,0 mol/L; volume injetado: 100 μL ; bobina de reação; 20 cm; vazão de nitrogênio: 150 mL/min; temperatura de atomização; 800⁰ C; altura do separador: 6 cm.

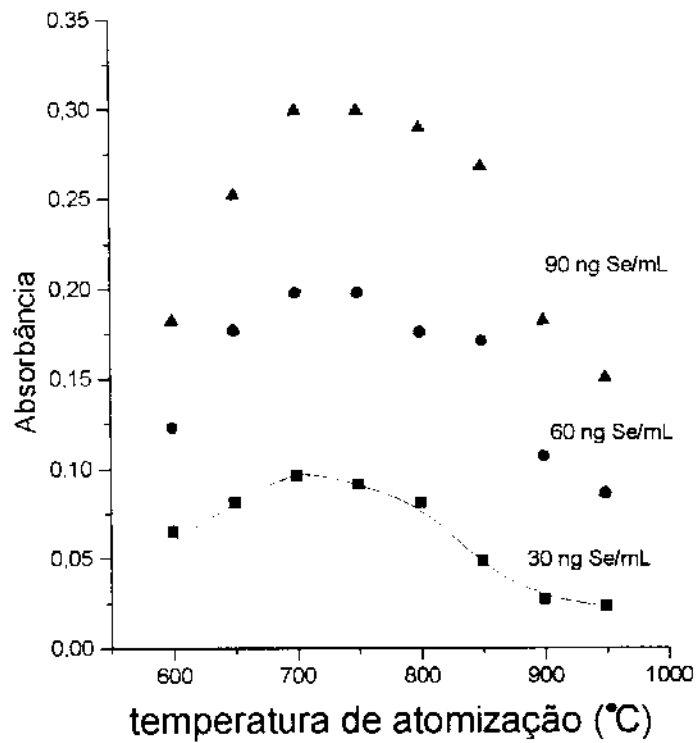


Figura IV.10: Efeito da temperatura de atomização na determinação de selênio.

Condições experimentais: concentração de NaBH_4 : 0,4%(m/v); concentração de HCl : 1,0 mol/L; volume injetado: 100 μL ; bobina de reação; 20 cm; vazão dos carregadores: 1,5 ml/min; vazão de nitrogênio: 150 mL/min; altura do separador: 6 cm.

IV . 3 - Estudo de Interferentes e Mascaramentos

Uma vez otimizadas as condições operacionais para o método proposto, passou-se então para a etapa seguinte, ou seja, o estudo do efeito de diversos íons que poderiam interferir na determinação de selênio para o método desenvolvido.

Foram testados 23 íons que poderiam causar interferência tanto na fase líquida quanto na fase gasosa. Para isto, foram preparadas soluções padrão de selênio em duas concentrações distintas: 30 ng/mL (equivalente a 3 ng de selênio) e 90 ng/mL (equivalente a 9 ng de selênio).

Para cada solução padrão de selênio foram adicionadas quantidades conhecidas do interferente a ser estudado nas seguintes proporções em relação à concentração de selênio: 1:5, 1:10, 1:25, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:5000 e 1:10000. A solução de selênio contendo o íon interferente a ser estudado foi introduzida (100 µL) no sistema F.I.A., esquematizado na Figura III.4. A diferença de absorvância da solução de selênio contendo o íon interferente e da solução contendo somente selênio mostrou a interferência devido à espécie interferente em estudo. Uma determinada espécie foi considerada como interferente para o selênio quando a diferença entre as absorvâncias medidas foi superior a 10%⁽¹¹⁰⁾.

Assim, o fator de interferência, FI, é definido por:

$$FI = A'/A$$

onde A' é o valor da absorvância relativa à solução de selênio na presença do interferente e A é a absorvância da solução de selênio sem o interferente.

Quando FI = 1,00 significa que não há interferência, enquanto fatores maiores que 1,10 ou menores que 0,90 indicam um aumento ou um decréscimo do sinal analítico devido ao interferente.

As Tabelas IV.1 e IV.2 mostram a concentração máxima dos diversos íons da fase líquida para a determinação de selênio com geração de hidreto utilizando soluções padrão de selênio 30 ng/mL e 90 ng/mL, respectivamente.

De acordo com os resultados, os íons Mn(II), Fe(II), Ti(IV), e Zn(II) não apresentam interferência para o método proposto.

O estudo de interferentes na fase líquida mostrou que os íons Fe(III), Co(II), Ni(II), Ag(I), Cr(III), Cu(II), Cd(II) e Zr(IV), provocam uma alteração maior do que 10% no sinal da absorvância devido ao selênio, sendo que a interferência mais crítica foi devido à Ag(I), Cu(II) e Cd(II) onde ocorreu a interferência mesmo na presença de pequenas quantidades destes íons.

Observou-se que a Ag(I) formou um precipitado branco de AgCl na presença de ácido clorídrico em linha. À medida que a concentração da espécie interferente aumentou, a absorvância diminuiu, sendo que na razão de 1:1000 não foi possível medir o valor da absorvância devido ao precipitado formado na solução de leitura.

A interferência para os íons Zr(IV), Ni(II) e Fe(III) é considerada relevante quando estes íons estão presentes em uma amostra na razão maior que 1:100 em relação ao selênio.

Os íons Cr(III) e Co(II) interferem somente na razão maior que 1:5000 em relação ao selênio.

O estudo de interferência para os íons da fase líquida mostrou o mesmo comportamento para a solução contendo 30 ng/mL de selênio e para a solução contendo 90 ng/mL de selênio.

Tabela IV.1: Fator de interferência dos íons da fase líquida na determinação de selênio (30 ng/mL).

Interf.	Razão Selênio:Interferente							
	1:5	1:10	1:25	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000
Zr(IV)	1,00	0,99	0,95	0,74	0,56	0,44	0,39	0,35
Cr(III)	1,00	1,00	1,01	1,00	1,00	1,00	0,83	0,72
Mn(II)	1,04	1,04	1,02	1,02	1,06	1,09	1,07	1,05
Co(II)	0,98	0,98	1,03	1,03	1,10	1,06	0,57	0,20
Fe(II)	1,00	0,95	0,97	1,00	1,00	0,97	1,04	0,99
Ag(I)	0,35	0,20	0,20	0,20	0,20	ppt.	ppt.	ppt.
Cu(II)	1,02	0,84	0,77	0,51	0,32	0,00	0,00	0,00
Ni(II)	1,00	0,91	1,08	1,10	0,18	0,08	0,09	0,09
Ti(IV)	0,92	0,92	0,96	0,92	0,96	0,96	1,00	1,00
Zn(II)	0,98	0,95	0,96	1,00	1,02	1,02	0,90	0,94
Fe(III)	1,00	1,05	1,08	1,15	1,10	1,10	1,08	1,08
Cd(II)	0,79	0,79	0,84	0,81	0,81	0,84	0,84	0,00

Tabela IV.2: Fator de interferência dos ions da fase liquida na determinação de selênio (90 ng/ml.).

Interf.	Razão Selênio:Interferente							
	1:5	1:10	1:25	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000
								0
Zr(IV)	1,07	1,07	1,00	0,97	0,42	0,29	0,29	0,28
Cr(III)	1,09	1,07	1,14	1,12	1,00	0,85	0,49	0,35
Mn(II)	1,00	0,98	0,96	0,96	1,00	0,99	0,98	0,98
Co(II)	1,00	0,99	1,08	1,08	1,14	1,00	0,54	0,30
Fe(II)	1,04	0,99	1,00	1,03	1,12	1,00	0,98	0,97
Ag(I)	0,15	0,15	0,15	0,15	ppt.	ppt.	ppt.	ppt.
Cu(II)	0,89	0,27	0,29	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ni(II)	1,00	1,11	1,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Ti(IV)	1,10	1,01	1,11	1,01	1,08	0,97	1,00	1,00
Zn(II)	0,99	1,00	0,98	0,95	1,02	0,97	1,05	0,99
Fe(III)	0,95	0,93	0,86	0,81	0,60	0,51	0,14	0,00
Cd(II)	1,04	1,06	1,04	1,02	1,03	1,02	0,74	0,00

A interferência causada por elementos que formam hidretos é mais crítica do que aquela causada por elementos que são reduzidos preferencialmente pelo borohidreto de sódio (fase líquida), pois, todos os elementos que formam hidretos interferem na determinação de selênio mesmo em quantidades pequenas.

As Tabelas IV.3 e IV.4 mostram a interferência causada pelos elementos que formam hidretos na determinação de selênio para soluções padrão de 30 ng de Se/mL e 90 ng de Se/mL. Observou-se alteração no sinal para o selênio na presença de As(III), As(V), Sn(II), Sn(IV), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Hg(II), Ge(IV) e Te(VI), sendo que a interferência é mais crítica para Sn(II) e Bi(III).

O estudo com o As, Sn e Sb em dois estados de oxidação mostrou que o estado de oxidação menor causou maior interferência. De acordo com os dados da literatura ⁽²⁹⁾, os elementos As(V), Sb(V) e Sn(IV) são reduzidos aos seus respectivos hidretos em frações menores quando comparados com os de estados de oxidação menor.

De acordo com o mecanismo de atomização de hidretos, os radicais hidrogênio, produzidos no processo de redução com borohidreto de sódio em meio ácido, são responsáveis pela atomização do hidreto. Outros elementos que formam hidretos reduzem a população dos radicais hidrogênio consumindo-os nos seus processos de atomização, portanto diminuindo a eficiência de atomização da espécie de interesse.

Durante o estudo de interferência da fase gasosa, observou-se a formação de um precipitado preto após o ponto de confluência, isto é, quando a solução da amostra entra em contato com borohidreto de sódio. Isto foi observado para os elementos Sb(V), Hg(II) e Te(VI). O precipitado é formado devido a decomposição do hidreto, liberando o metal que é reduzido para o estado fundamental, ocasionando a perda no sinal analítico. Neste caso, o sistema F.I.A. deve ser limpo com a solução carregadora de HCl 1,0 mol/L. Observou-se que o precipitado depositava na placa de vidro sinterizado do separador gás-líquido, impedindo a passagem do gás de arraste que "varria" o hidreto para o atomizador. Neste caso, é necessário limpar o sistema de

geração e separação aquecendo a placa de vidro sinterizado com HNO₃ 10% (v/v), fora de linha.

Após a identificação dos íons interferentes procedeu-se um estudo para eliminar ou, pelo menos, minimizar seus efeitos.

Inicialmente, foi proposto um procedimento para eliminar o efeito dos íons da fase líquida. Para isto foi utilizada uma mini-coluna contendo 50 mg de resina de troca iônica (Dowex 50W-X8) em linha (Figura III.4).

A resina Dowex 50W-X8 é uma resina de troca catiônica, portanto, sendo capaz de reter os cátions metálicos (Mⁿ⁺) deixando passar o selênio que está na forma de ânion (SeO₃⁻²). Embora, as resinas de troca iônica sejam mais usadas para reduzir o efeito de interferência de elementos da fase líquida, o seu uso não exclui a possibilidade de também reduzir o efeito de interferência de elementos da fase gasosa, desde que estes elementos estejam presentes numa amostra real como cátions metálicos.

Tabela IV.3: Fator de interferência dos íons da fase gasosa na determinação de selênio (30 ng/mL).

Razão Selênio:Interferente								
Interf.	1:5	1:10	1:25	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000
Pb(II)	0,96	1,00	1,06	0,99	0,97	0,96	1,01	0,96
As(III)	1,03	1,00	0,93	0,59	0,03	0,00	0,00	0,00
As(V)	1,04	1,00	1,06	1,04	0,73	0,55	0,23	0,23
Sn(II)	0,73	0,71	0,71	0,71	0,46	0,41	0,26	0,00
Sn(IV)	0,97	1,00	1,00	0,86	0,64	0,47	0,19	0,13
Bi(III)	0,85	0,80	0,45	0,33	0,37	0,53	0,47	0,44
Sb(III)	0,93	0,92	0,41	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
Sb(V)	1,03	1,00	1,00	1,00	1,00	0,81	ppt.	ppt.
Hg(II)	1,04	1,00	0,85	0,81	0,77	0,70	ppt.	ppt.
Te(VI)	0,97	0,93	0,91	0,81	0,69	0,40	0,06	0,06
Gc(IV)	1,03	1,03	1,03	0,98	0,78	0,59	0,26	0,00

Tabela IV.4: Fator de Interferência dos íons da fase gasosa na determinação de selênio (90 ng/ml.).

Interf.	Razão Selênio:Interferente							
	1:5	1:10	1:25	1:100	1:500	1:1000	1:5000	1:10000
								0
Pb(II)	1,02	1,05	1,02	0,99	0,97	0,93	0,56	0,00
As(III)	1,00	0,84	0,64	0,13	0,07	0,00	0,00	0,00
As(V)	1,03	1,00	0,97	0,77	0,36	0,19	0,10	0,07
Sn(II)	1,10	1,22	1,14	1,11	0,55	0,28	0,21	0,00
Sn(IV)	0,93	0,95	0,90	0,67	0,42	0,27	0,17	0,00
Bi(III)	0,80	0,75	0,50	0,30	0,30	0,20	0,20	0,00
Sb(III)	0,72	0,58	0,34	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
Sb(V)	1,02	1,08	1,08	1,00	0,62	0,47	ppt.	ppt.
Hg(II)	0,91	0,95	0,98	0,86	0,71	0,62	0,49	ppt.
Te(VI)	0,99	1,00	0,95	0,97	1,12	1,36	ppt.	ppt.
Ge(IV)	0,89	0,75	0,75	0,62	0,51	0,51	0,00	0,00

A concentração do ácido clorídrico foi otimizada para separar o selênio dos íons interferentes na resina e posterior formação do hidreto na redução com NaBH₄. Nestas condições, a concentração de 1,0 mol/L de HCl é suficiente para reter a maioria dos interferentes na resina, recebendo a seguir, em confluência, uma linha adicional transportando HCl 6,0 mol/L, antes de misturar com a solução 0,4% (m/v) de NaBH₄ para a geração quantitativa do hidreto de selênio.

A Tabela IV.5 mostra a percentagem de conversão do hidreto de selênio utilizando a coluna de resina de troca catiônica e adicionando HCl em diferentes concentrações em linha. De acordo com os resultados, na concentração de HCl 6,0 mol/L é possível a conversão total do hidreto de selênio.

Tabela IV.5 - % Conversão de selênio utilizando coluna de resina (50 mg) e adicionando HCl em diferentes concentrações em linha. Solução padrão: 90 ng Se/mL.

Concentração HCl (mol/L)	% Conversão
1,0	51
2,0	61
3,0	76
4,0	96
5,0	98
6,0	100

Os resultados (Tabela IV.6) mostram que a recuperação do sinal original, na presença dos íons interferentes foi maior do que 92% apresentando, portanto, um fator de interferência maior que 0,92. Nestas condições, pode-se concluir que estes íons [Co(II), Ni(II), Cu(II), Cd(II), Zr(IV), Fe(III)] não alteram significativamente o sinal para o selênio.

Tabela IV.6 - Fator de interferência (F.I) dos íons da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica (50 mg). Solução padrão: 90 ng Se/mL.

Interferente	Razão Se:1	F.I.
Co(II)	1:5000	0,93
Ni(II)	1:500	0,92
Cu(II)	1:10	0,96
Ag(I)	1:5	0,75
Cd(II)	1:5000	0,99
Zr(IV)	1:100	0,96
Cr(III)	1:5000	0,85
Fe(III)	1:25	0,97

O mesmo não acontece para os íons Ag(I) e Cr(III) onde a recuperação do sinal foi de 75% e 85%, respectivamente, obtendo-se, portanto o fator de interferência de 0,75 para Ag(I) e de 0.85 para Cr(III). Isto indica que os íons Ag(I) e Cr(III) não são retidos quantitativamente na coluna. Portanto, as diferentes condições de acidez para a retenção destes metais na coluna foram avaliadas visando melhor recuperação do sinal analítico. Para este estudo, a concentração de HCl da solução carregadora foi otimizada.

A Tabela IV.7 mostra que a concentração de HCl menor ou igual a 0,1mol/L na linha carregadora é suficiente para reter os íons Ag(I) e Cr(III) na resina sem causar interferência significativa no sinal analítico. A solução de ácido clorídrico 0,1mol/L foi adotada para a solução carregadora e para o preparo de amostras quando os íons Ag(I) e Cr(III) estiverem presentes numa amostra real.

Tabela IV.7 - Fator de interferência dos íons Ag(I) e Cr(III) utilizando coluna de resina de troca catiônica (50 mg) em diferentes concentrações de HCl (mol/L). Solução padrão: 90 ng Se/mL, Razão Se:Ag(I)=1:5, Razão Se:Cr(III)=1:5000.

HCl (mol/L)	1×10^{-4}	1×10^{-3}	1×10^{-2}	0,1	0,5	1,0	2,0	3,0
Ag(I)	0,99	0,92	0,91	0,91	0,75	0,72	0,64	0,62
Cr(III)	0,94	0,94	0,91	0,91	0,91	0,83	0,83	0,57

Desde que numa amostra real o selênio pode estar na presença de várias espécies, foram preparadas soluções contendo uma mistura de dois ou mais íons interferentes (Tabela IV.8). Os resultados não se mostraram muito satisfatórios na presença dos íons Ni(II) e Cr(III). Possivelmente, a quantidade de resina (50mg) não é suficiente para reter os metais presentes na mistura. Então, um estudo foi realizado avaliando a quantidade de resina na coluna a fim de melhorar a eficiência de retenção dos íons Ni(II) e Cr(III) na resina.

As Tabelas IV.9 e IV.10 mostram que uma coluna contendo 100 mg de

resina é suficiente para minimizar o efeito dos íons Ni(II) e Cr(III) contidos numa mistura e na presença de outros íons interferentes.

Tabela IV.8 - Fator de interferência (F.I.) da mistura de íons da fase líquida utilizando coluna de resina de troca catiônica (50 mg). Solução padrão: 90 ng Se/mL.

Interferentes	Razão Se:I	F.I.
Ni:Cr	1:500:5000	0,59
Ni:Cu	1:500:10	0,99
Ni:Cu:Ag	1:500:10:5	0,96
Cu:Ag	1:10:5	0,99
Co:Ni:Cu:Ag:Zr:Cr:Fe	1:5000:500:10:5:100:5000:25	0,57

O dimensionamento das colunas contendo quantidades maiores de resina não causou mudanças significativas na pressão hidrodinâmica no sistema de fluxo. Tal fato foi verificado medindo a vazão do fluido carregador para os diferentes tamanhos de coluna. Observou-se que a vazão manteve praticamente constante para as colunas de 50 e 100 mg de resina.

A passagem da solução contendo a mistura de interferentes pela coluna de troca catiônica provoca uma saturação da resina, provavelmente diminuindo a eficiência de troca. Foi observado que a passagem da solução carregadora (HCl 0,1 mol/L) pela coluna durante um tempo de cerca de 30 segundos foi suficiente para o condicionamento da coluna.

De acordo com os resultados obtidos, o uso da resina Dowex 50W-X8 mostrou-se eficiente para minimizar o efeito dos íons interferentes da fase líquida para o método proposto.

Tabela IV.9 - Fator de interferência (F.I.) da mistura dos íons Ni(II) e Cr(III) variando a quantidade de resina. Razão Se:Ni:Cr – 1:500:5000. Solução padrão: 90 ng Se/mL.

Quantidade de resina (mg)	F.I.
50	0,60
60	0,80
80	0,85
90	0,94
100	0,94

Tabela IV.10 - Fator de interferência (F.I.) da mistura dos íons Cu(II), Ni(II), Cr(III), Zr(IV), Fe(III) e Ag(I) variando a quantidade de resina. Razão Se : Cu(II) : Ni(II) : Cr(III) : Zr(IV): Fe(III) : Ag(I) = 1:10:500:5000:100:25:5. Solução padrão: 90 ng Se/mL.

Quantidade de resina (mg)	F.I.
50	0,60
60	0,65
80	0,70
90	0,80
100	0,90

Com a finalidade de eliminar ou, pelo menos, minimizar o efeito de interferência dos íons da fase gasosa foi feita uma tentativa de utilizar agentes mascarantes convencionais, como por exemplo: tiouréia, iodeto de potássio, tiosemicarbazida, L-cisteína.

O KI não se mostrou um agente mascarante adequado para a determinação de selênio, pois este reduz o Se(IV) a selênio no estado elementar impedindo a geração do hidreto.

A tiouréia se mostrou um mascarante mais promissor para reduzir o efeito de interferência dos elementos da fase gasosa na técnica de geração de hidretos para o método proposto.

A Tabela IV.11 mostra o uso de diferentes concentrações de tiouréia adicionada na solução carregadora (HCl 1.0 mol/L). Os resultados indicam que com o uso de tiouréia 0,5% (m/v) é possível reduzir o efeito dos íons: Sn(II), Sn(IV), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Ge(IV) e Hg(II). Aumentando a concentração de tiouréia para 1,5 % é possível reduzir também o efeito de As(III) e As(V). No entanto, o sinal analítico na presença dos íons Sn(IV), Sb(III), Sb(V) e Te(VI) é diminuído à medida que a concentração de tiouréia é aumentada para 1,5%. isto indica que o selênio também é reduzido ⁽⁵⁹⁾ pela tiouréia 1,5%.

O uso dos mascarantes L-cisteína e tiosemicarbazida foi avaliado nas concentrações de 0,1% e 0,5% (Tabela IV.12). A solução 0,5% de tiosemicarbazida foi possível minimizar o efeito dos íons Sn(II), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Hg(II), Ge(IV) e Te(VI). O efeito de Te(VI) pode ser eliminado com o uso da solução de tiosemicarbazida 0,1% e 0,5% ou com a solução de L-cisteína 0,1% e 0,5%.

Tabela IV.11 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa usando tiouréia como mascarante. Solução padrão: 30 ng Se/mL.

Interferente	Razão Se:I	tiouréia % (m/v)				
		0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
As(III)	1:100	0,12	0,61	0,75	1,00	1,00
As(V)	1:500	0,12	0,77	1,00	1,00	1,00
Sn(II)	1:5	0,60	1,00	1,00	1,00	1,00
Sn(IV)	1:100	0,90	0,90	0,88	0,85	0,72
Sb(III)	1:10	1,00	1,00	1,00	0,88	0,81
Sb(V)	1:500	1,00	1,00	0,96	0,59	0,50
Bi(III)	1:5	0,73	0,95	0,95	1,00	1,00
Hg(II)	1:25	0,42	0,94	0,94	0,94	1,00
Ge(IV)	1:500	0,60	0,90	1,00	1,00	1,00
Te(VI)	1:500	0,55	0,75	0,40	0,20	0,10

Tabela IV.12 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa usando L-cisteína e tiosemicarbazida como mascarantes. Solução padrão: 30 ng Se/mL.

Interferente	Razão Se:I	L-cisteína		tiosemicarbazida	
		0,1%	0,5%	0,1%	0,5%
As(III)	1:100	0,31	0,23	0,19	0,24
As(V)	1:500	0,38	0,32	0,29	0,33
Sn(II)	1:5	1,00	1,00	0,85	1,00
Sn(IV)	1:100	0,70	0,60	0,60	0,67
Sb(III)	1:10	0,82	0,46	0,80	1,00
Sb(V)	1:500	0,87	0,93	0,76	0,97
Bi(III)	1:5	0,64	0,53	0,85	0,92
Hg(II)	1:25	0,73	0,75	0,80	1,00
Ge(IV)	1:500	0,73	0,72	0,80	1,00
Te(VI)	1:500	1,00	1,00	1,00	1,00

Desde que os elementos que geram hidretos são formados sob condições distintas de acidez, foi feita uma tentativa de superar os efeitos de interferência destes elementos otimizando a concentração de ácido clorídrico. Como mascarante auxiliar ao efeito ácido foi usada a tiouréia 0,5% (m/v) adicionada à solução do ácido clorídrico. Neste caso, como mostra a Tabela IV.13, o uso da solução carregadora de HCl 0,5 mol/l, contendo 0,5% de tiouréia reduz o efeito de interferência dos íons Sn(II), Sn(IV), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Hg(II), Ge(IV), como já era previsto num estudo anterior quando foi utilizado como mascarante a solução de tiouréia 0,5% em HCl 1,0 mol/L (Tabela IV.11). No entanto, para reduzir o efeito de As(III) e As(V), é necessário alterar as condições de acidez do meio, ou seja, utilizar a solução carregadora de HCl de concentração igual ou menor que 0,1 mol/L. Nestas condições, é possível reduzir o efeito de As(III) e As(V) utilizando tiouréia 0,5% como mascarante auxiliar ao efeito ácido.

Tabela IV.13 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa controlando a acidez do meio e utilizando tiouréia com mascarante auxiliar.

Interferente	Razão Se:I	HCl 0,01mol/L + tiouréia 0,5%	HCl 0,1mol/L + tiouréia 0,5%	HCl 0,5mol/L + tiouréia 0,5%
As(III)	1:100	0,92	0,92	0,88
As(V)	1:500	0,97	1,00	0,82
Sn(II)	1;5	0,97	1,00	0,91
Sn(IV)	1:100	0,82	0,86	0,92
Sb(III)	1:10	0,74	0,85	0,94
Sb(V)	1:500	0,80	0,90	1,00
Bi(III)	1:5	0,46	0,61	0,97
Hg(II)	1:25	0,83	0,88	0,93
Ge(IV)	1:500	0,90	1,00	1,00
Te(VI)	1:500	0,60	0,60	0,70

Desde que não foi encontrado um mascarante único que fosse eficiente para reduzir o efeito de interferência dos elementos que formam hidretos na determinação de selênio, foi proposto um “coquetel” de mascarantes. A Tabela IV.14 mostra os resultados obtidos com o uso de uma solução mascarante contendo tiouréia, tiosemicarbazida e ácido clorídrico. O uso da solução carregadora contendo a mistura de tiouréia 0,5%, tiosemicarbazida 0,5% e HCl 1,0 mol/L foi possível reduzir o efeito de interferência de todos os elementos estudados que geram hidretos, exceto Sb(III), Sb(V) e Bi(III).

De acordo com os resultados obtidos a respeito do estudo de diferentes mascarantes para reduzir o efeito dos íons interferentes da fase gasosa, conclui-se que não existe um mascarante único capaz de reduzir o efeito de todos os elementos que geram hidretos. Este fato não é problemático para a determinação de selênio numa amostra real, pois a concentração estudada dos elementos interferentes no método desenvolvido é bem maior que a concentração encontrada na prática, isto é, em amostras reais. Portanto, o efeito de interferência dos elementos que geram hidretos não é tão crítico quanto ao estudado no método desenvolvido. Daí, convém ressaltar que embora no método desenvolvido não foi contornado o efeito de interferência de todos os elementos que geram hidretos, o uso dos mascarantes estudados constituiu-se numa alternativa satisfatória para minimizar a interferência gasosa na técnica de geração de hidretos.

Não é nossa pretensão propor um procedimento que resolva o problema de interferências de elementos na técnica de geração de hidretos. De acordo com os resultados obtidos, alguns procedimentos podem ser utilizados para minimizar o efeito de interferência de elementos na determinação de selênio por geração de hidretos.

De acordo com o procedimento mais conveniente a ser adotado para reduzir o efeito de interferência de elementos da fase gasosa, o qual dependerá dos elementos constituintes presentes na amostra em questão, é possível minimizar o efeito de interferência de elementos da fase gasosa utilizando soluções de mascarantes. O efeito de interferência dos elementos da fase líquida é minimizado utilizando a resina de troca catiônica Dowex 50W-X8.

Nestas condições, a potencialidade do método analítico desenvolvido é demonstrada pela aplicação à determinação de selênio para diferentes matrizes.

Tabela IV.14 - Fator de interferência dos íons da fase gasosa usando um coquetel de mascarantes. Solução padrão: 90 ng/mL.

Interferente	Razão Se:I	tiouréia 0,5% + tiosemicarbazida 0,5% + HCl 1,0 mol/L	tiouréia 0,5% + tiosemicarbazida 0,5% + HCl 0,1 mol/L
As(III)	1:10	1,04	0,83
As(V)	1:100	1,00	0,70
Sn(II)	1:5	1,00	0,96
Sn(IV)	1:100	1,05	0,97
Sb(III)	1:5	0,85	0,95
Sb(V)	1:500	0,59	0,75
Bi(III)	1:5	1,22	0,82
Hg(II)	1:100	1,00	0,87
Ge(IV)	1:5	0,99	1,00
Te(VI)	1:1000	1,06	1,23

IV . 4 - Sistema para a Pré-concentração de Selênio

IV . 4 . a - Otimização do sistema de pré-concentração

Tendo como objetivo melhorar o limite de detecção para o método desenvolvido, foi proposto um sistema para a pré-concentração do selênio.

Nesta etapa, tentou-se buscar maior sensibilidade para a determinação de selênio em amostras complexas onde o nível encontrado deste elemento está na ordem de traços.

A configuração do sistema F.I.A. empregada na pré-concentração de selênio está esquematizada na Figura III.5 (Parte Experimental). Inicialmente,

foi estudada a viabilidade de se utilizar um sistema para a pré-concentração de selênio utilizando o fenômeno de sorção. Para isto foram avaliados alguns complexantes que imobilizados em suportes adequados fossem eficientes para a pré-concentração de selênio.

Os primeiros estudos para a pré-concentração do selênio foram direcionados, utilizando o reagente mercaptobenzotiazol (MBT). Inicialmente, foi feita uma tentativa de utilizar o MBT suportado em resina polimérica macroporosa XAD-4. No entanto, os resultados não foram satisfatórios. Então, tentou-se buscar outro suporte que fosse mais eficiente para o MBT.

De acordo com os trabalhos de Terada ⁽⁹³⁾, o MBT foi suportado na sílica-gel. Neste caso, para dar continuidade aos trabalhos a serem desenvolvidos, resolveu-se adotar como referência os trabalhos de Terada ⁽⁹³⁾. Vários estudos foram feitos com o objetivo de encontrar as melhores condições para pré-concentração utilizando o MBT em sílica-gel, porém, sem nenhum êxito.

A literatura mostra que é possível a pré-concentração seletiva de selênio utilizando reagentes orgânicos contendo grupos tióis ⁽¹⁰⁰⁾. Um dos reagentes bastante utilizado é o Bismutiol II (mercapto-fenil-ditio-diazol) o qual contém 3 grupos tióis como é mostrado na Figura II.2 (Revisão Bibliográfica).

Uma alternativa foi usar o Bismutiol I (2,5-dimercapto-1,3,4-tiodiazol), desde que o Bismutiol II não era disponível e sua síntese fugiria dos objetivos propostos neste trabalho. Portanto, um estudo rápido e comparativo com os agentes complexantes MBT suportado em sílica-gel e Bismutiol I suportado em XAD-4, mostraram-se resultados mais promissores para o Bismutiol I.

O Bismutiol I (Bis I) suportado em XAD-4 apresentou melhores resultados do que aqueles com MBT, porém a coluna de pré-concentração contendo o sistema Bis I / XAD-4 tinha pouca durabilidade para a pré-concentração do selênio (cerca de 10 amostras eram suficientes para arrastar todo o Bis I da resina XAD-4).

O Bismutiol I é um sal dipotássico, portanto, apresenta cargas negativas como é mostrado na Figura IV.11.

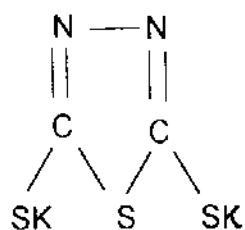


Figura IV. 11 - Bismutiol I

Com base nesta propriedade, resolveu-se utilizar resinas de troca aniônica para suportar o Bis I. Nestas condições, espera-se que o Bis I fixe melhor na resina por fenômeno de troca iônica do que simplesmente por adsorção física como é no caso da resina XAD-4. A resina utilizada para esta proposta foi a Dowex 1X8 de 100-200 mesh.

O Bis I é suportado na resina (forma de cloreto) de troca aniônica simplesmente por misturá-la com a solução aquosa de Bis I, sendo ligado por interações físicas e iônicas. Quando 0,1 mmol de Bis I foi suportado em 1 grama de resina: 0,01 mmol do Cl^- é desprendido. À medida que a quantidade de Bis I foi aumentada (0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mmol), o cloreto era trocado na mesma quantidade. Isto conclui que a quantidade de 0,1 mmol de Bis I foi suficiente para saturar a resina. Para avaliar a capacidade de troca do Cl^- na resina pelo Bis I, estudou-se o efeito de uma solução de NaCl sob o sistema Bis I / resina. A resina contendo 0,3 mmol de Bis I / g resina foi colocada em contato com diferentes concentrações de NaCl (0,05; 0,25 e 0,50 mol/L), nas mesmas condições experimentais utilizadas na impregnação. Observou-se que somente 0,1% do Bis I havia sido desprendido da resina para as diferentes concentrações de NaCl. Daí, concluí-se que as interações entre o sistema resina-Bis I são mais fortes que o sistema resina-cloreto. Desta forma, a capacidade de troca da resina é atingida rapidamente^(*). O Bis I por apresentar

^(*) O Bis I é imobilizado na resina por mecanismo de troca iônica e por interações físicas⁽⁹⁷⁾, isto indica que a troca iônica do Cl^- pelo Bis I na resina, ou vice-versa, não está na mesma razão.

duas cargas negativas (Figura IV.11) é fortemente adsorvido na resina, sendo que o ânion tiolato age como o grupo de troca iônica. Depois que o reagente é imobilizado na resina, o grupo tiol é capaz de reagir com o selênio em meio ácido. A sorção do selênio pode ser atribuído à formação do complexo selenotrisulfeto de acordo com a equação (97):



R = forma livre do Bis I

Os estudos procedentes foram conduzidos no sentido de avaliar a impregnação do Bis I na resina. Diferentes quantidades de Bis I (0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mmol) foram impregnadas na mesma quantidade de resina (1,0 g de resina). A concentração de Bis I no sobrenadante foi avaliada. A Tabela IV.15 mostra que o tempo de 1 hora à temperatura ambiente, o Bis I é adsorvido 100 % na resina.

Tabela IV.15 - Impregnação (%) de Bismutiol I na resina de troca aniônica (Dowex 1X8).

Quantidade de BisI/g resina	% impregnação
0,1 mmol	100
0,3 mmol	100
0,5 mmol	100
1,0 mmol	100

O Bis I suportado em diferentes quantidades na resina de troca aniônica foi testado no sistema de pré-concentração utilizando o mesmo tamanho de coluna (4,5 cm). A Figura IV.12 mostra que o sinal de absorbância máximo é obtido quando 0,3 mmol de Bis I suportado na resina é utilizado na pré-concentração do selênio.

A capacidade de ligação do selênio no sistema Bis I - resina aumenta com o aumento da quantidade de Bis I até 0,3 mmol de Bis I/g resina. sendo que para quantidades maiores de Bis I, há um decréscimo no sinal analítico. O decréscimo no sinal analítico para quantidades de Bis I maiores que 0,3 mmol/g resina não é previsto pela literatura. Os dados fornecidos pela literatura ⁽⁹⁷⁾ referem-se a sistemas similares para a pré-concentração de selênio utilizando o reagente Bis II suportado em resina Amberlite IRA-400. Estes resultados não prevêem o decréscimo do sinal analítico do selênio para quantidades crescentes de Bis II suportado na resina Amberlite IRA-400.

Para a continuidade do trabalho foi utilizada uma coluna de 4,5 cm ($\phi = 2\text{mm}$) contendo 0,3 mmol de Bis I suportado em um grama de resina (Dowex 1X8). A impregnação foi de acordo com o procedimento III.6 (Parte Experimental).

A etapa seguinte foi o estudo de otimização das possíveis variáveis que poderiam influenciar o sistema de pré-concentração do selênio. As variáveis envolvidas no sistema de pré-concentração do selênio são: vazão e tempo de pré-concentração, natureza e concentração do eluente, vazão e tempo de eluição e condições de acidez favoráveis para a pré-concentração de selênio na resina contendo o Bis I.

Um estudo foi proposto visando a otimização destes parâmetros buscando como resposta analítica maior sensibilidade e melhor reprodutibilidade do método.

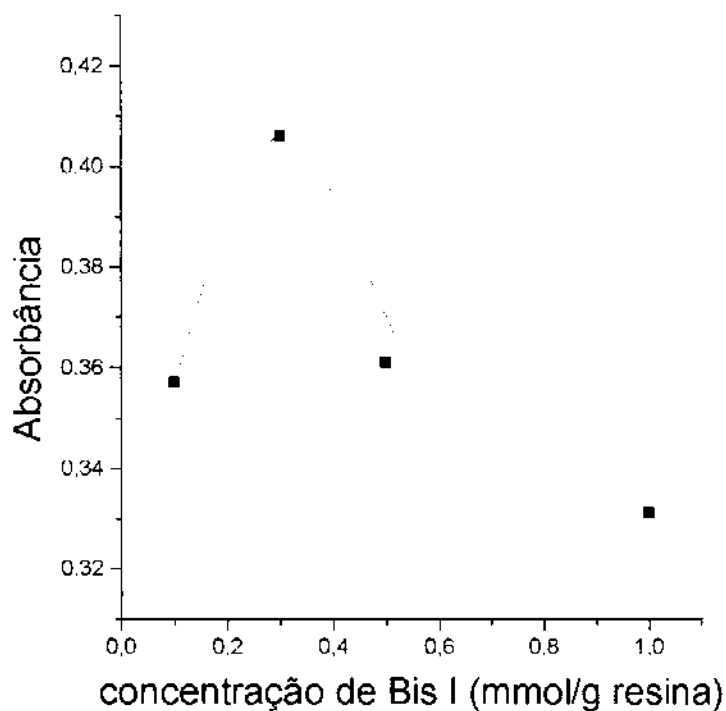


Figura IV.12 - Efeito da concentração de Bismutiol I impregnado na resina Dowex 1X8 na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré -concentração: 1 min; tempo de eluição: 25 s; vazão de pré-concentração: 1,2 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: variável.

Desde que o tipo de eluente utilizado pode comprometer a posterior determinação de selênio, a primeira variável a ser avaliada foi a natureza do eluente.

A reação envolvida na etapa de pré-concentração é uma reação de complexação com grupos tióis. Neste caso, outro reagente que forme reações de complexação onde o produto formado seja mais estável que o complexo selênio-Bis I poderia ser utilizado como eluente. Foram testados os seguintes reagentes: L-cisteína, tiouréia e tiosemicarbazida. As soluções foram preparadas com estes reagentes na presença de água desionizada e na presença de HCl 3,0 mol/L (Tabela IV.16). Considerando o aumento no sinal analítico, uma maior eficiência na eluição foi obtida mediante o uso da solução de tiouréia. A solução de NaBH₄ 0,4% (m/v) não foi apropriada para a eluição do selênio, pois, havia pouca repetibilidade no sinal analítico devido à grande quantidade de bolhas de hidrogênio formadas na coluna.

Tabela IV.16 - Eluentes utilizados na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: variável; tempo de pré-concentração: 1 min; tempo de eluição: 25 s; vazão de pré-concentração: 1,2 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol Bis I/g resina.

Eluente	concentração (mol/L)	absorbância
tiouréia	0,1	0,129
tiouréia (HCl 3,0 mol/L)	0,1	0,119
L-cisteína	0,05*	0,123
L-cisteína (HCl 3,0 mol/L)	0,1	0,114
tiosemicarbazida	0,1	0,057
tiosemicarbazida (HCl 3,0 mol/L)	0,1	0,057

* foi utilizada uma concentração menor devido a pouca solubilidade da L-cisteína em água.

Para o estudo do efeito da vazão na pré-concentração de selênio, 50 ng/mL de selênio em HCl 3.0 mol/l foi passado na coluna de 4.5 cm com a vazão variável entre 0.40 a 5.10 mL/min. Um aumento na vazão de pré-concentração ocasiona maior volume da amostra passando através do coluna, conseqüentemente uma maior quantidade de ions são adsorvidos na resina, obtendo-se assim um maior sinal analítico, como mostra a Figura IV.13. Em vazões baixas, a adsorção do selênio ocorre mais lentamente e com vazões acima de 3.0 mL/min não há um aumento significativo do sinal analítico. Embora o aumento de vazão não ocasionasse um aumento significativo de pressão na linha (não foi observado vazamentos, principalmente nas junções da coluna de pré-concentração), optou-se por usar uma vazão de pré-concentração máxima fixada em 1.8 mL/min para o menor consumo de amostra.

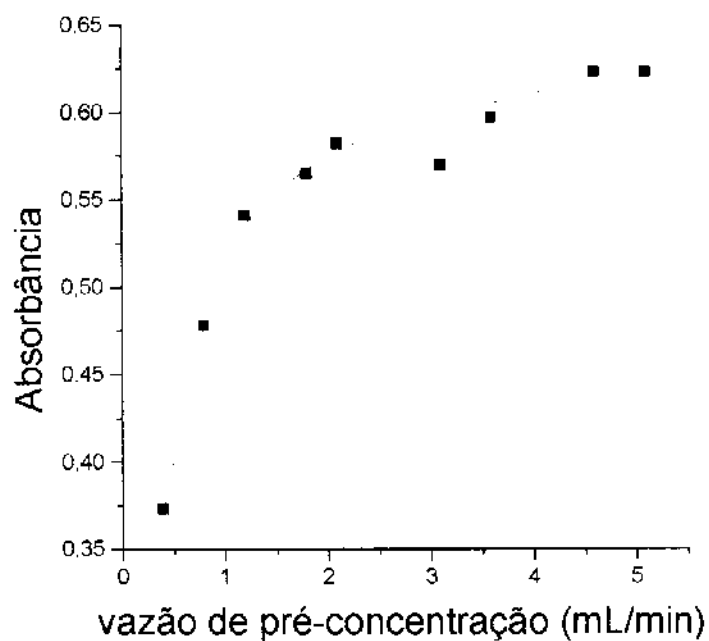


Figura IV.13 - Efeito da vazão na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 1 min; tempo de eluição: 25 s; vazão de pré-concentração: variável; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

O tempo de pré-concentração foi estudado com a vazão de 1,8 mL/min. A coleta de selênio foi máxima com o tempo de 3 minutos de pré-concentração, como mostra a Tabela IV.17.

A variação do tempo de pré-concentração de 2 minutos para 3 minutos não influencia significativamente as medidas de absorbância, como pode se verificar através dos resultados apresentados (Tabela IV.17). Para manter o compromisso entre a frequência analítica e a sensibilidade, escolheu-se o tempo de 2 minutos para dar continuidade a este trabalho. Assim, uma vazão de 1,8 mL/min e um tempo de pré-concentração de 2 minutos foram estabelecidos para a etapa de pré-concentração.

Tabela IV.17 - Efeito do tempo sobre a pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: variável; tempo de eluição: 25 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

tempo (s)	absorbância
30	0,272
60	0,402
90	0,484
120	0,534
150	0,570
180	0,574
210	0,574

O efeito da concentração de tiouréia, usada como eluente, na conversão do selênio adsorvido na coluna foi feito utilizando várias concentrações de solução de tiouréia (1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% m/v) com a vazão de 0,7 mL/min (Figura IV.14).

A conversão do complexo selênio-Bis I no complexo selênio-tiouréia aumenta com o aumento da concentração de tiouréia. A concentração de 10 % de tiouréia foi a máxima concentração usada para a eluição de selênio. O uso de tiouréia de concentração maior que 10% não é viável devido a dificuldade de solubilização da tiouréia em água.

O sinal analítico obtido em decorrência da variação da acidez na solução de tiouréia, como mostra a Figura IV.15, evidencia que a acidez do meio modifica as condições de formação do complexo. Os resultados deste estudo mostram que a solução do eluente em água fornece maior sensibilidade do que a solução do eluente em HCl. Deste modo, optou-se por uma solução de tiouréia 10% em água para a eluição do selênio.

A eficiência da eluição pode ser avaliada em função tanto da natureza, da concentração do eluente como da vazão de eluição.

Neste trabalho, a vazão da solução de tiouréia de concentração de 10% (m/v) foi estudada.

A reação química na eluição é influenciada quando se varia a vazão de eluição. A eluição foi feita no processo de reamostragem usando o sistema F.I.A. da Figura III.5. Neste caso, é utilizada a reamostragem de uma fração da banda eluída. Este processo de reamostragem permite verificar a extensão do grau de distribuição do selênio na zona de eluição. Uma amostragem quase ponto a ponto da banda eluída foi obtida variando o tempo e a vazão de eluição, cujos resultados estão apresentados na Tabela IV.18.

Tabela IV.18 - Efeito do tempo e da vazão de eluição no sinal analítico (absorbância) observado na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 2 min; tempo de eluição: variável; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: variável; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

vazão de eluição	tempo de eluição (s)							
	10	15	20	25	30	35	40	45
0,45 mL/min	0,045	0,050	0,086	0,128	0,239	0,353	0,309	0,285
0,80 mL/min	0,132	0,165	0,413	0,386	0,337	0,325	0,319	0,301
1,20 mL/min	0,190	0,434	0,407	0,392	0,344	0,268	0,253	0,220
1,80 mL/min	0,395	0,449	0,419	0,331	0,259	0,187	0,187	0,181

Os resultados evidenciam que nos primeiros 10 segundos, independente da vazão de eluição, apenas uma fração do selênio eluído alcança a alça de reamostragem. Quando toda banda eluída estiver contida na alça de reamostragem, tem-se a condição de pico máximo. Como a eluição do selênio ocorre de maneira rápida, apenas o tempo de 15 segundos com uma vazão do eluente de 1,8 mL/min foi suficiente para garantir a eluição do selênio. Nestas condições, a coluna é condicionada para a próxima etapa de pré-concentração, simplesmente pela passagem da corrente carregadora contendo o eluente. Portanto, visando obter uma eluição mais rápida, foi estabelecida a vazão de 1,8 mL/min para a etapa de eluição e um tempo de 15 segundos é suficiente para garantir a eluição e recondicionar a coluna.

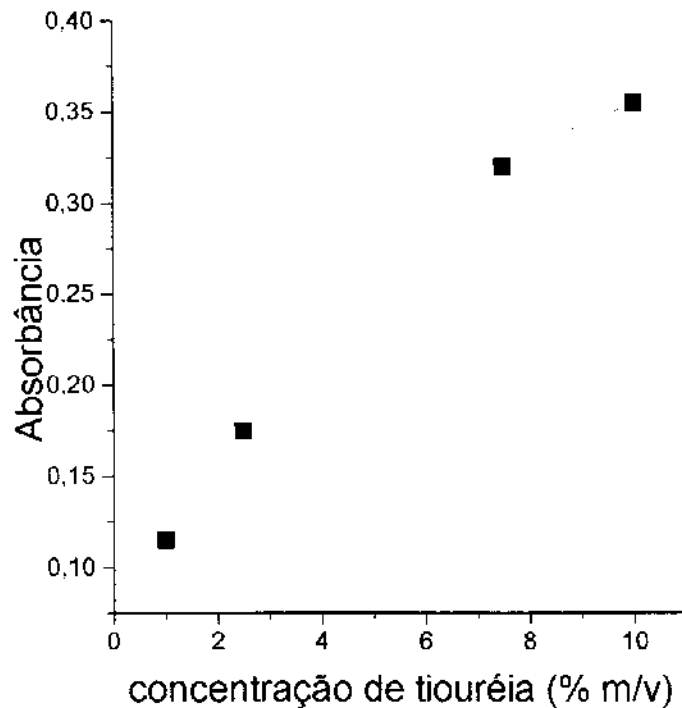


Figura IV.14 - Efeito da concentração de tiouréia utilizada como eluente.

Condições experimentais: eluente: tiouréia em diferentes concentrações preparada em água desionizada; tempo de pré - concentração: 2 min; tempo de eluição: 25 s ; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

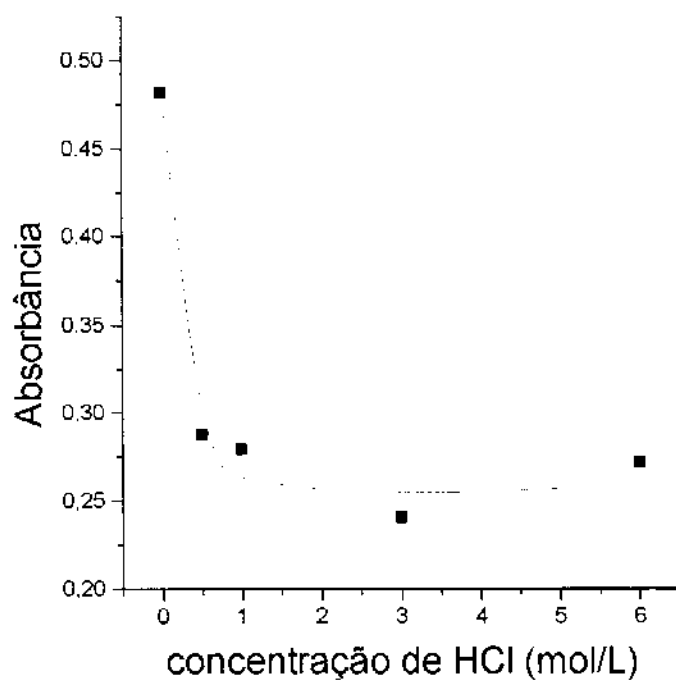


Figura IV.15 - Efeito da concentração de ácido clorídrico como eluente auxiliar ao efeito da tiouréia 10%.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10% preparada em diferentes concentrações de HCl; tempo de pré - concentração: 2 min; tempo de eluição: 25 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/ml. em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

A reação do selênio com o Bis I na resina ocorre em meio ácido. Os íons selênio (SeO_3^{2-}) são melhores adsorvidos quando a concentração de ácido clorídrico na amostra for maior que 1,0 mol/L, como mostra a Figura IV.16. Em concentrações menores que 1,0 mol/L a adsorção do selênio não é efetiva.

De acordo com as condições experimentais estudadas, é necessário que a concentração de ácido clorídrico na amostra seja mantida no mínimo ao valor de 1,0 mol/L para a pré-concentração do selênio na coluna contendo o sistema Bis I / resina.

O estudo da quantidade de resina (mg) utilizando diferentes tamanhos de coluna, mantendo-se constante o seu diâmetro interno, é mostrado na Tabela IV.19. Não foram observadas diferenças significativas no que se refere à pressão no sistema de fluxo exercida pelas colunas de pré-concentração com diferentes tamanhos. Este fato foi constatado medindo a vazão da amostra antes e após a passagem da mesma pela coluna de diferentes tamanhos. Observou-se que a vazão não alterou mais que 0,1 mL/min após a passagem da amostra pela coluna de pré-concentração para os diferentes tamanhos de coluna. Nenhuma variação no sinal analítico com a quantidade de Bis I / g de resina foi observada para quantidades maiores que 110 mg de Bis I / g de resina. Portanto, conclui-se que a eficiência de concentração é a mesma quando se utiliza uma coluna de 4,5 ou 5,0 cm de comprimento. Para a sequência deste trabalho optou-se pela coluna de pré-concentração de 4,5 cm.

Tabela IV.19 - Estudo de diferentes comprimentos de coluna de pré-concentração mantendo-se constante os seus diâmetros internos.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 1min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L ; coluna: variável; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

tamanho da coluna (cm)	quantidade de resina(mg)	absorbância
1,0	40	0,188
2,0	50	0,246
2,5	70	0,288
3,0	80	0,311
3,5	90	0,327
4,5	110	0,394
5,0	130	0,356

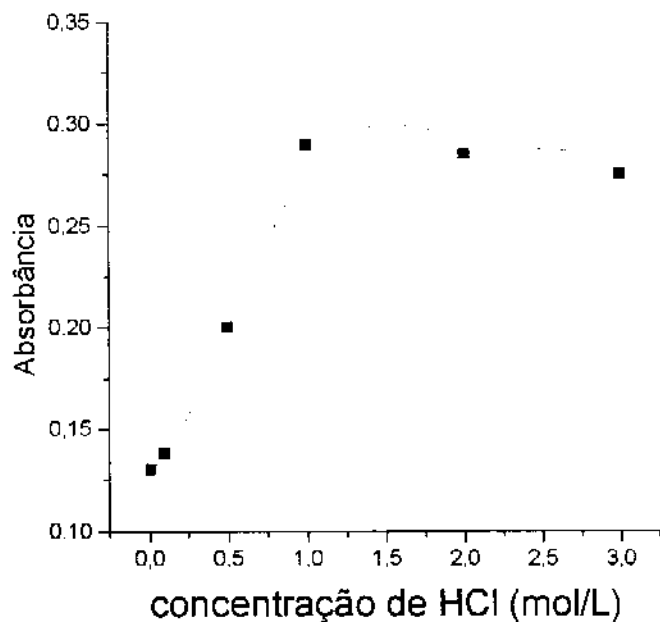


Figura IV.16 - Efeito da concentração de HCl na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 1 min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/ml. em diferentes concentrações de HCl ; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

A Tabela IV.20 mostra a estimativa do tempo de uso da coluna de pré-concentração de comprimento 4.5 cm em relação ao número de amostras injetadas no sistema otimizado. É possível fazer 150 amostras, aproximadamente, utilizando a mesma coluna sendo que após este número há uma queda de 10% do sinal analítico. É recomendável que o número de amostras injetadas seja no máximo 150 amostras com a mesma coluna, sendo que após este número deve ser substituída por uma nova coluna. Este fato não é problemático para o andamento das análises, pois a coluna pode ser prontamente substituída por outra.

A percentagem de selênio adsorvido na resina foi avaliada coletando a solução resultante após a passagem pela coluna de pré-concentração e medindo a concentração de selênio utilizando o método desenvolvido sem a etapa de pré-concentração. Observou-se que para as condições experimentais otimizadas, a percentagem de selênio adsorvido na resina foi de 98%.

Na etapa de pré-concentração para o método desenvolvido, as variáveis envolvidas no sistema F.I.A. e na técnica de geração de hidretos otimizadas no item IV.2 (Resultados e Discussões) foram mantidas nos seus respectivos valores otimizados. No entanto, tornou-se necessário avaliar a concentração de NaBH_4 para o sistema de pré-concentração, desde que o produto da reação resultante desta etapa não é o mesmo que o da etapa inicial do desenvolvimento do método.

Tabela IV.20 - Estimativa do tempo de uso da coluna de pré-concentração em relação ao número de amostras injetadas.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 1 min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/l. ; coluna: 4,5cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

Número de injeções	absorbância
10	0,435
50	0,435
100	0,430
150	0,415
170	0.390

A Tabela IV.21 mostra o efeito da concentração de NaBH₄ no sistema de pré-concentração de selênio. De acordo com os resultados apresentados, a concentração de NaBH₄ 1,0% (m/V) indica maior eficiência na reação de geração do hidreto de selênio. O aumento da concentração de NaBH₄ ocasiona a formação de grande quantidade de hidrogênio, e por consequência menor repetibilidade do sinal analítico. Desta maneira, considerou-se conveniente manter a solução de 0,4% de NaBH₄.

Tabela IV.21 - Efeito da concentração de NaBH₄ no sinal analítico (absorbância) observado no sistema de pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 1 min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 1,2 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L ; coluna: 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol Bis I/ g resina.

conc. de Se (ng/mL)	concentração de NaBH ₄ (%)				
	0,4	0,8	1,0	1,2	1,5
0,5	0,023±0,002	0,042±0,005	0,054±0,005	0,046±0,006	0,048±0,009
1,0	0,038±0,003	0,057±0,006	0,072±0,006	0,063±0,006	0,062±0,008
1,5	0,057±0,003	0,070±0,006	0,088±0,006	0,078±0,006	0,073±0,010
2,0	0,067±0,003	0,080±0,005	0,106±0,007	0,092±0,007	0,082±0,013

O efeito de alguns metais na pré-concentração do selênio no sistema de fluxo foi investigado utilizando uma solução padrão contendo 50 ng/mL de selênio e os interferentes na razão de 1:1 e 1:20 em relação ao selênio para os íons interferentes da fase líquida e a razão de 1:1, 1:20, 1:100, 1:500 e 1:1000 para os íons interferentes da fase gasosa em relação ao selênio sem o uso da coluna de troca catiônica.

Os resultados das Tabelas IV.22 mostram que os íons da fase líquida Co(II), Zn(II), Ni(II), Cd(II), Pb(II), Ag(I) e Cu(II) não interferem no método de pré-concentração até a razão estudada de 1:20. Nestes dados, quando comparados com aqueles já apresentados (Tabelas IV.1 e IV.2), observa-se que os íons Ag(I), Cu(II) e Cd(II) não interferem tanto no método de pré-concentração quanto no método estudado anteriormente sem a etapa de pré-concentração. Conclui-se que o sistema Bis I / resina além de ser eficiente para

a pré-concentração de selênio, é também satisfatório para a separação de alguns ions interferentes.

A Tabela IV.23 mostra que os ions As(III), Sb(III), Te(VI) e Hg(II) interferem na pré-concentração do selênio. Para o estudo de interferência dos elementos que geram hidretos no sistema de pré-concentração, observou-se que estas espécies influenciam a adsorção do selênio, visto que uma concentração elevada dos ions interferentes competirão com o Bis I. Analisando os dados obtidos na Tabela IV.23, verifica-se que para a concentração dos ions As(III), Te(VI) e Hg(II) na razão de 1:20, ocorre interferência sendo o efeito mais pronunciado para o ion Te(VI).

Tabela IV.22 - Efeito (F.I. – fator de interferência) de alguns metais (I) da fase liquida na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 2 min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/l.; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

metal (I)	Razão Se:I=1:1	Razão Se:I= 1:20
Co(II)	0,96	0,95
Zn(II)	0,96	0,99
Ni(II)	0,98	1,00
Cd(II)	0,92	0,95
Pb(II)	0,91	0,91
Ag(I)	0,90	0,90
Cu(II)	0,96	0,95

Tabela IV.23 - Efeito (F.I. = fator de interferência) de alguns metais (I) da fase gasosa na pré-concentração de selênio.

Condições experimentais: eluente: tiouréia 10%; tempo de pré-concentração: 2 min; tempo de eluição: 15 s; vazão de pré-concentração: 1,8 mL/min; vazão de eluição: 0,7 mL/min; solução-padrão: 50 ng Se/mL em HCl 3,0 mol/L; coluna 4,5 cm; impregnação: 0,3 mmol BisI/ g resina.

metal	Razão Se:I				
	1:1	1:20	1:100	1:500	1:1000
As(V)	0,99	0,95	0,62	0,41	0,17
Sb(V)	1,00	0,96	0,92	0,82	0,82
Sn(II)	1,00	0,97	0,62	0,41	0,17
As(III)	1,05	0,64	0,73	-	-
Sb(III)	1,00	0,80	0,25	0,41	0,41
Te(VI)	0,94	0,25	0,16	0,15	0,15
Ge(IV)	0,99	1,00	1,00	0,92	0,92
Hg(II)	0,90	0,65	0,35	0,16	0,16
Bi(III)	0,91	0,92	0,82	0,16	0,16

IV . 4 . b - Otimização do sistema de pré-concentração para determinação de selênio em água de mar.

As determinações de selênio em amostras de água de mar têm grande interesse ambiental onde o nível encontrado deste elemento na água de mar, geralmente, está na ordem de 0,1 ng Se/mL.

Desde que o método para a pré-concentração e determinação de selênio foi otimizado, tentou-se buscar a viabilidade de aplicá-lo às amostras com alto teor salino.

Para isto foi feita uma simulação do conteúdo de selênio na água de mar utilizando amostras de água de mar sintética preparada de acordo com as quantidades de sais descritas no Apêndice B e dopadas com quantidades conhecidas de selênio. As soluções das amostras foram analisadas no sistema F.I.A. para a pré-concentração e determinação de selênio. Os resultados obtidos não se mostraram satisfatórios devido à baixa repetibilidade. Provavelmente a alta concentração de ânions presentes nas amostras de alto teor salino como a água de mar (sulfato, cloreto, nitrato, fosfato) estariam interferindo no sistema resina/Bis I contido na coluna de pré-concentração fazendo com que o Bis I fosse trocado pelos íons contidos na amostra. Uma alternativa seria utilizar quantidades maiores de Bis I impregnado na resina. Foi observado num estudo anterior (Figura IV.12) que o sinal analítico para o selênio é máximo quando 0,3 mmol de Bis I é impregnado em 1 grama de resina. Neste caso, a proposta de utilizar maiores quantidades de Bis I impregnado/g resina de início seria inconveniente, pois o sinal analítico seria reduzido. Por outro lado, a quantidade de Bis I sendo maior, a competição de outros íons pelo Bis I na resina seria menor o que melhoraria a precisão dos resultados.

A Tabela IV.24 mostra o efeito da concentração de NaCl na pré-concentração de selênio^(*) utilizando diferentes quantidades de Bis I (0,3; 0,5 e 1,0 mmol) impregnado na mesma quantidade de resina (1,0 grama). Os resultados mostram que o sinal analítico é pouco afetado para as amostras dopadas com selênio na presença de diferentes concentrações de NaCl quando se utiliza a coluna de pré-concentração contendo 0,5 mmol de Bis I impregnado em 1 grama de resina. Para as colunas contendo 0,3 mmol e 1,0 mmol de Bis I impregnado em 1 grama de resina os resultados mostraram-se mais discrepantes na presença de diferentes concentrações de NaCl. O sinal para o selênio utilizando a coluna de 0,3 mmol Bis I/g resina mostrou-se contrário ao sinal para o selênio utilizando 1,0 mmol de Bis I/g resina. Ou seja, o sinal analítico aumentou com o aumento da concentração de NaCl para

^(*) a salinidade da água de mar é de aproximadamente 3%. Desde que grande parte da salinidade é devida ao NaCl, pode-se considerar que o teor de NaCl presente na água de mar é de 3%.

a coluna de 0,3 mmol de Bis I/g resina e, em contrapartida, o sinal analítico diminuiu com o aumento da concentração de NaCl até 2,0 % para a coluna de 1,0 mmol de Bis I.

Estes dados mostram um comportamento aleatório do método desenvolvido para o selênio na presença de matrizes com alto teor salino. A precisão do método dada pelo desvio padrão relativo foi de 10% para 0,3 mmol de Bis I / g resina; 1,7% para 0,5 mmol de Bis I / g resina e 6,0% para 1,0 mmol de Bis I / g resina. Desde que os resultados mostraram satisfatórios para 0,5 mmol de Bis I/g resina, em termos de precisão, alterando as condições de impregnação de 0,3 mmol para 0,5 mmol de Bis I, a recuperação de selênio não foi satisfatória dentro das condições experimentais estudadas (Tabela IV.30). Portanto, pode-se concluir que o método de pré-concentração é sensível a matrizes com alto teor salino. Embora os resultados não se mostraram tão promissores para a determinação de selênio em amostras com alto teor salino foi feita uma nova tentativa no sentido de aplicar o método à determinação de selênio em amostras de água de mar dado o interesse analítico e ambiental. Para contornar o efeito de matriz resolveu-se utilizar o método de adição padrão. Os resultados obtidos e mostrados no item IV. 6. utilizando o método de adição padrão para a determinação de selênio em água de mar mostraram-se satisfatórios dada a boa recuperação obtida para o selênio tanto para amostras de água de mar sintética como para amostras de água de mar real. Conclui-se que nestas condições experimentais, o método pode ser aplicado à determinação de selênio em amostras de água de mar.

Tabela IV.24 - Efeito da concentração de NaCl no sinal analítico (absorbância) observado na pré-concentração de selênio.

concentração de NaCl (%)	concentração de Bis I (mmol/g resina)		
	0,3	0,5	1,0
0,5	0,098	0,129	0,125
1,0	0,122	0,127	0,114
2,0	0,119	0,132	0,108
3,0	0,128	0,128	0,121
5,0	0,138	0,125	0,132

IV . 5 - Curvas de calibração, precisão, exatidão e limite de detecção

IV . 5 . 1 - Curvas de calibração, precisão, e limite de detecção

O registro típico dos sinais do sistema A.I.F. para a determinação de selênio sem a etapa de pré-concentração, nas condições experimentais aqui descritas está representado na Figura IV.17. Estes resultados, obtidos para uma curva de calibração (Figura IV.19), são lineares dentro da faixa de concentração de interesse. A análise de dados de calibração revelou que os pontos experimentais descreveram uma reta, cuja equação é $Y=0,0299 + 0,00335X$, onde Y é o sinal analítico (medido em absorbância), X é a concentração de selênio (em ng/mL). O coeficiente de correlação linear variando a concentração de selênio de 1,0 a 80,0 ng/mL é igual a 0,9955. A precisão do método foi avaliada através do desvio padrão relativo (d.p.r.), calculado a partir de dez determinações em replicata, foi de 2,3% para o nível de 100 ng/mL. Os valores de d.p.r. observados são praticamente constantes durante todo o estudo. O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três, segundo as recomendações da IUPAC, foi calculado

em 300 ng/mL, correspondente a 30 pg de selênio. A frequência de injeção obtida foi de 140 amostras por hora.

Na Figura IV.18 são mostrados sinais observados em uma calibração usando soluções com concentrações entre 1.0 e 20.0 ng/mL para o sistema de pré-concentração de selênio. Todas as curvas obtidas durante o desenvolvimento do método mostraram o mesmo comportamento, mesmo com o uso de diferentes colunas de pré-concentração. Os resultados obtidos mostram que na faixa de 0 a 10.0 ng/mL a resposta é linear (Figura IV.19). A equação que relaciona o sinal analítico (absorbância) com a concentração de selênio é $Y=0,0562 + 0,0165X$, com um coeficiente de correlação de 0,9991, onde Y é a resposta analítica e X a concentração de selênio (ng/mL). A curva descrita por esta equação é mostrada na Figura IV.19. A estimativa do desvio padrão calculado a partir de dez determinações em replicata é de 2,5% para uma solução padrão de 50 ng/mL. O limite de detecção obtido foi de 30 pg/mL, correspondente em massa a 3 pg de selênio. Considerando o tempo gasto na pré-concentração e na eluição com o sistema proposto, foi obtida uma frequência analítica de 26 determinações por hora.

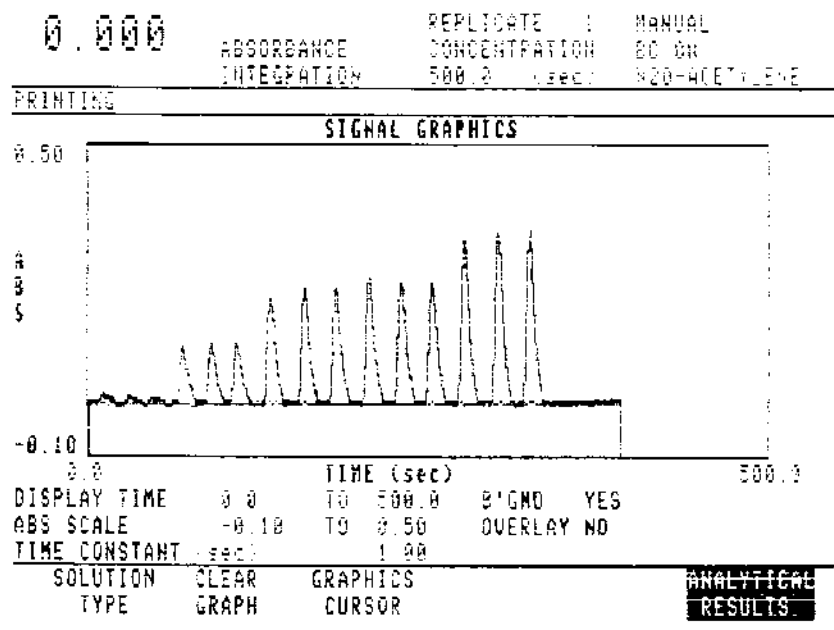


Figura IV.17 - Sinais transientes de calibração e determinação de selênio utilizando o sistema sem a etapa de pré-concentração. Da esquerda para a direita soluções padrão de selênio: branco, 20, 40, 60 e 100 ng/mL.

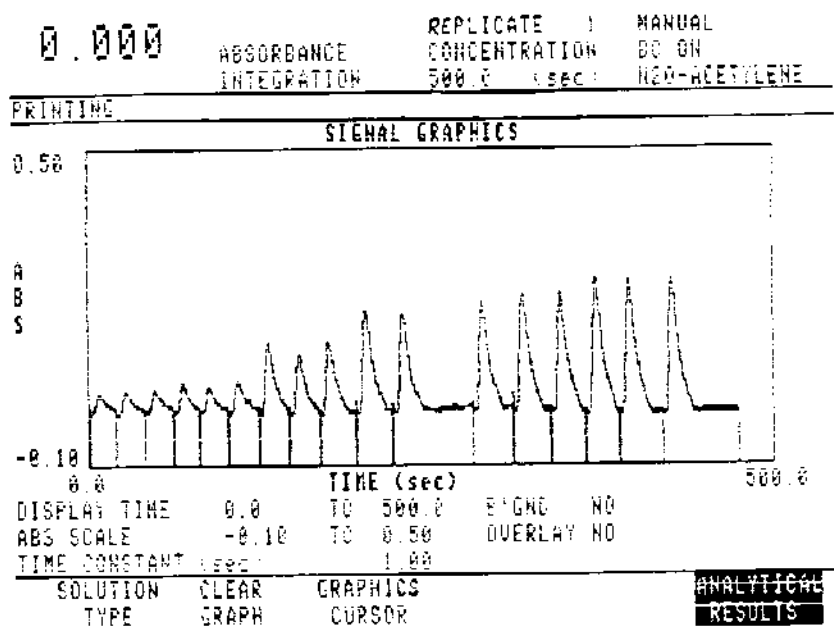


Figura IV.18 - Sinais transientes de calibração e determinação de selênio utilizando o sistema com a etapa de pré-concentração. Da esquerda para a direita soluções padrão de selênio: branco, 1, 5, 10, 15 e 20 ng/mL.

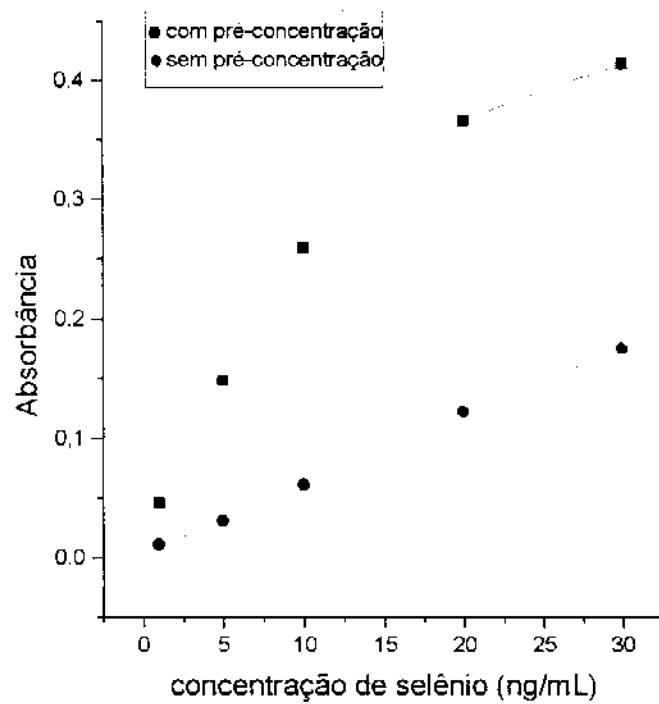


Figura IV.19 - Curva de calibração para determinação de selênio utilizando o sistema com pré-concentração e sem pré-concentração.

Analisando os dados da curva de calibração (Figura IV.19) para o sistema com a etapa de pré-concentração e sem a etapa de pré-concentração para o método desenvolvido observa-se que ocorreu melhoramentos significativos na sensibilidade do método para o sistema com a etapa de pré-concentração. De acordo com a definição proposta por Fang ⁽⁴⁾, o fator de enriquecimento calculado a partir do aumento da resposta analítica para o método proposto foi de 7,0 unidades. Este número indica que o sinal analítico para o selênio foi bem maior para o sistema com a etapa de pré-concentração comparando com o sistema sem a pré-concentração, dentro da faixa linear da curva de calibração. Embora não exista um critério adotado na literatura para avaliar o fator de enriquecimento dos sistemas de pré-concentração em fluxo, e não seria a nossa intenção estabelecer este critério, portanto os méritos dos sistemas de pré-concentração em fluxo devem ser ainda mais explorados. Comparando os dados obtidos com aqueles encontrados na literatura ⁽¹¹¹⁾, onde o fator de enriquecimento é de 9 unidades, observa-se que o valor está próximo ao da literatura, conseqüentemente, os méritos aplicados à pré-concentração em fluxo para o método desenvolvido estão de acordo com os da literatura.

IV . 5 . 2 - Exatidão do método

IV . 5 . 2 . a - Determinação de selênio em amostra de aço

A exatidão do método proposto foi avaliada com padrão certificado de aço com respeito ao conteúdo de selênio.

A determinação de selênio em amostras de interesse metalúrgico consistiu na determinação de selênio em uma liga contendo níquel e cromo. As amostras de aço, em duplicata, foram tratadas independentemente de acordo com procedimento do item III.9 (Parte Experimental). As soluções resultantes foram injetadas no sistema F.I.A. em 10 replicatas para cada amostra. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela IV.25, onde são comparados com os valores certificados. Estes dados mostram que os resultados obtidos usando o método desenvolvido estão em concordância com aqueles obtidos pelo valor certificado, já que nenhuma diferença estatística entre os resultados foi

observada a um nível de confiança de 95%. Pode-se verificar que o método proposto mostrou-se exato.

Embora, a determinação de selênio esteja sujeita à interferência dos elementos níquel e cobre (ver Tabela VII.2 do Apêndice B); a resina de troca catiônica, Dowex 50W-X8, mostrou-se eficiente para minimizar o efeito de interferência destes elementos para a determinação de selênio na amostra utilizada.

Tabela IV.25 - Determinação de selênio ($\mu\text{g/mL}$) em amostra de aço padrão certificado.

amostra	valor certificado	valor encontrado
SRM - 361	40	$39,4 \pm 1,0$

IV . 5 . 2 . b - Determinação de selênio em amostras de urina

A exatidão do método proposto para a determinação de selênio em amostras de interesse clínico foi avaliada com padrão certificado de urina.

Os resultados médios finais, apresentados na Tabela IV.26, foram obtidos a partir das curvas de calibração descritas na Figura IV.19, e comparados com os resultados obtidos pelo valor certificado. Apesar da baixa concentração de selênio em amostras de urina, a determinação do selênio pelo método desenvolvido forneceu resultados satisfatórios, uma vez que foram concordantes com aqueles dos valores fornecidos nos certificados (Tabela IV.26).

Tabela IV.26 - Determinação de selênio ($\mu\text{g/mL}$) em amostras de urina padrão certificado SRM 2670.

amostra	valor certificado	valor encontrado
nível normal	$0,030 \pm 0,008$	$0,027 \pm 0,002$
nível elevado	$0,46 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,03$

IV . 5 . 2 . c - Determinação de selênio em amostras de plantas

A determinação de selênio em amostras de interesse agrônômico foi feita em amostras de material de referência de plantas.

A exatidão do método para a determinação de selênio em amostras de plantas foi avaliada através de amostras de plantas fornecidas pelo “International Plant - Analytical Exchange” (IPE) da Universidade de Wageningen (Holanda). Mais de 200 laboratórios participam deste programa de calibração, os quais recebem as amostras de material vegetal e determinam os diversos elementos desta matriz, de acordo com os seus próprios procedimentos de rotina. Apenas 3 laboratórios apresentaram resultados da determinação de selênio para as amostras fornecidas pelo IPE.

Neste trabalho, cada amostra de planta analisada foi dividida em duas porções e tratadas independentemente. Como as amostras recebidas para testes já estavam secas e moídas, então, seguiu-se para a abertura do material vegetal de acordo com o procedimento descrito na Parte Experimental. As soluções resultantes foram injetadas no sistema F.I.A. em três replicatas. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela IV.27 juntamente com um resumo dos resultados apresentados no relatório do IPE.

Os critérios para rejeição dos resultados, empregado pelo IPE, utilizam a mediana dos valores encontrados e um desvio, calculado a partir da mediana dos desvios absolutos, em lugar da média e do desvio padrão geralmente empregados em tratamentos estatísticos convencionais, pois os dados reunidos envolvem resultados de diferentes procedências e de diversos procedimentos analíticos. O critério de rejeição é dado por:

$$\frac{|(x - \mu)|}{\sigma \cdot f} > 2 \quad (1)$$

Onde: x = resultado em teste,

μ = mediana dos resultados,

σ = mediana dos desvios absolutos,

$f =$ fator de correção dado por: $f = (0,7722 + 1,604/n) \cdot t$

onde $n =$ número de resultados.

$t =$ valor de "Student", com 95% de probabilidade, para $n - 1$ graus de liberdade.

Num primeiro momento, os resultados de um conjunto de medidas são submetidos ao teste de rejeição (equação 1) e aqueles que excederem ao valor 2 recebem dois asterísticos. Num segundo momento, os resultados isentos de asterísticos são novamente submetidos ao teste de rejeição recebendo um asterístico os que excederem a 2. Finalmente, os resultados que não receberam asterísticos constituem o conjunto de resultados aceitos os quais definem o intervalo de aceitação e a mediana.

Por comparação direta, verifica-se que todos os resultados (Tabela IV.27) obtidos pelo método se encontram no intervalo aceito de acordo com o procedimento de rejeição empregado pelo IPE. Isto mostra a potencialidade do método desenvolvido para amostras da área agrônômica. A amostra 4-951 não apresentou valor concordante com aqueles fornecidos pelo IPE. No entanto, isto não invalida o método desenvolvido desde que já existe discrepâncias nos próprios valores fornecidos pelo IPE.

É claro que este procedimento não é o mais recomendado, estatisticamente, para avaliar a exatidão do método proposto. No entanto, isto não invalida o uso da comparação direta para determinar a confiabilidade dos resultados obtidos.

Neste trabalho, foi possível mostrar que os parâmetros estudados para o método desenvolvido utilizando a técnica F.I.A. e geração de hidreto para a determinação de selênio possibilitaram a aplicação desta metodologia também para amostras de plantas.

Tabela IV.27 - Determinação de selênio ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em amostras de material de referência de plantas.

amostra - código	método proposto $\mu\text{g}/\text{kg}^{(a)}$	resultados do IPE $\mu\text{g}/\text{Kg}^{(a)}$	
		mediana	intervalo aceito ^(b)
1 - 680	40,0/47,0/40,0	42	36 - 50
2 - 686	94,0/101,0/84,0	95	71 - 119
3 - 883	31,0/21,0/21,0	33	20 - 46
4 - 951	20,0/20,0/22,0	42	36 - 50

a - concentração na matéria seca

b - intervalo dos valores aceitos pelo IPE

amostras: 680 - folha de cevada, procedência: Holanda

686 - capim, procedência: Holanda

883 - palha de cravo, procedência: Holanda

951 - folhas da planta Aubergine^(*), procedência: Holanda

^(*) fruta da família da beringela especialmente cultivada na Inglaterra.

IV . 6 - Determinação de Selênio em Amostras Reais

IV . 6 . a - Determinação de selênio em amostras de medicamento

A determinação de selênio em amostras de medicamentos foi feita analisando o teor de selênio em dois tipos de medicamentos: Vitamax e β -caroteno^(*). As amostras de medicamento foram preparadas, em duplicatas, de acordo com o procedimento do item III.9 (Parte Experimental).

Desde que o teor de selênio no medicamento não é conhecido, utilizou-se o método de Espectrometria de Absorção Atômica com forno de grafite, usando níquel como modificador químico, para comparar os resultados. A Tabela IV.28 mostra os resultados obtidos pelo método comparativo, onde verificou-se concordâncias entre os dois métodos.

Tabela IV.28 - Determinação de selênio (ng/mL) em amostras de medicamento^(**).

amostras	concentração de selênio (ng/mL)	
	forno de grafite♣	método proposto
Beta-caroteno 1	20,0±1,0	18,0/19,0/19,0
Beta-caroteno 2	37,0±1,0	36,0/36,0/34,0
Vitamax 1	30,0± 1,0	31,0/31,0/32,0
Vitamax 2	24,0+1,0	28,0/28,0/27,0

♣ Condições experimentais no Apêndice C.

IV . 6 . b - Determinação de selênio em amostras de urina

O objetivo de nosso trabalho para a determinação de selênio em amostras de interesse clínico foi somente o de estabelecer um método químico

(*) β -caroteno: medicamento da Naturalis - Alimentos Naturais Ltda usado como suplemento alimentar e produzido pelo laboratório Biotik do Brasil Ltda, SP.

Vitamax: medicamento usado como suplemento alimentar produzido pelo laboratório Herbarium Laboratório Botânico Ltda, PR.

(**) A composição declarada pelo fabricante ao conteúdo de selênio é de 50 μ g de selênio na forma de complexo por 350 mg de medicamento.

de análise, sem abordar o aspecto clínico e suas consequências. Neste caso, procurou-se determinar como ocorria a eliminação de selênio ingerindo via medicamentos, através da análise da urina. Inicialmente, foi feito um estudo visando conhecer o nível de selênio na urina de pessoas que não estavam sob tratamento com dose de selênio. Para isto foi recolhida urina de duas pessoas que não haviam tomado nenhum tipo de medicamento contendo selênio. Os resultados obtidos mostraram uma concentração de selênio na urina na ordem de 3,5 ng/mL (Tabela IV.29). A mesma amostra de urina foi dopada com quantidades conhecidas de selênio, a saber 1,0 ng/mL e 10,0 ng/mL. Os resultados indicados pela Tabela IV.29 mostraram a recuperação maior que 90% para a determinação de selênio.

A título de ilustração procurou-se verificar como era o perfil da eliminação do selênio através da urina. Desta maneira, uma pessoa foi submetida a uma dose única de medicamento (Vitamax) e foi feito o monitoramento na urina num período de 72 horas. A Figura IV.20 mostra o perfil da eliminação do selênio pela urina em função do tempo, onde o ponto correspondente ao tempo zero mostra a absorbância medida antes da ingestão do medicamento. A Figura IV.20 mostra uma maior eliminação do selênio nas primeiras 18 horas após a ingestão do medicamento. Após o tempo de 72 horas, a concentração de selênio na urina foi de 5,5 ng/mL aproximando-se ao nível de selênio determinado na urina (3.5 ng/mL) em condições normais.

Tabela IV.29 - Determinação e recuperação de selênio em amostras de urina dopada com selênio.

amostras de urina	concentração de Se (ng/mL)
urina sem dopagem	3,5 ± 0,6
urina dopada 1,0 ng/mL	0,9 ± 0,2
urina dopada 10,0 ng/mL	10,3 ± 0,6

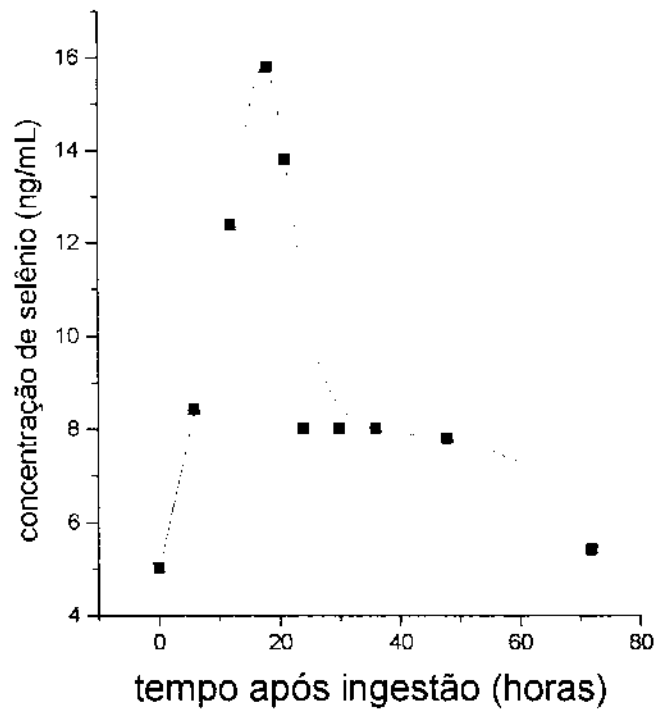


Figura IV.20 - Monitoramento de selênio na urina de pacientes submetidos a uma dose única de medicamento contendo selênio (Vitamax).

IV.6.c - Determinação de selênio em amostras de água de mar

A determinação de selênio em amostras de interesse ambiental consistiu na determinação de selênio em amostras de água de mar sintética dopadas com selênio e água de mar real da região de Ubatuba - SP. Como não foram encontradas quantidades detectáveis de selênio na água de mar real utilizando o método proposto, foi feita também dopagem de selênio na água de mar real a fim de verificar a recuperação do selênio bem como a viabilidade de sua determinação. Neste estudo, as soluções padrão de selênio foram preparadas em água desionizada e, na tentativa de minimizar o efeito de matriz também foram preparadas soluções padrão de selênio na matriz em questão. A recuperação de selênio para as amostras dopadas foi avaliada determinando o teor de selênio nas amostras utilizando curvas de calibração obtidas com soluções padrão preparadas em água desionizada e soluções padrão preparadas na própria matriz. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela IV.30 e IV.31 utilizando o método desenvolvido, sem a adição padrão, para a determinação de selênio em amostras de água de mar sintética e água de mar real. Embora os resultados apresentados para a determinação de selênio em amostras de água de mar foram melhores quando comparados com soluções padrão preparadas na matriz de interesse, estes valores não foram satisfatórios. Portanto, matrizes com alto teor salino têm efeitos significativos no método desenvolvido e, seus efeitos só podem ser minimizados com o método de adição padrão.

A Tabela IV.32 mostra que os resultados obtidos utilizando o método de adição padrão para a determinação selênio foram mais satisfatórios. Observou-se (Tabela IV.32) que houve boa recuperação para o selênio tanto para as amostras de água de mar sintética como para as amostras de água de mar real. Nestas condições, conclui-se que o método pode ser aplicado à determinação de selênio em amostras de água de mar.

Tabela IV.30 - Determinação de selênio em amostras de água de mar sintética dopadas com selênio.

Amostras dopadas com Se (ng/mL)	Recuperação de selênio nas amostras	
	padrões preparados em água desionizada	padrões preparados em água de mar sintética
0,30	0,12±0,02	0,20±0,02
0,80	0,36±0,16	0,50±0,16

Tabela IV.31 - Determinação de selênio (ng/mL) em amostras de água de mar real dopadas com selênio.

Amostras dopadas com Se (ng/mL)	Recuperação de selênio nas amostras	
	padrões preparados em água desionizada	padrões preparados em água de mar real
0,30	0,06±0,02	0,16±0,02
0,80	0,20±0,02	0,36±0,07
1,40	0,50±0,11	0,70±0,15

Tabela IV.32 - Recuperação de selênio em água de mar sintética e real pelo método de adição padrão e pré-concentração de selênio

Amostras dopadas com Se (ng/mL)	Recuperação de selênio nas amostras	
	água de mar sintética	água de mar real
3,0	3,8 ± 0,4	3,5 ± 0,4
5,0	5,7 ± 0,3	5,5 ± 0,4
10,0	9,8 ± 0,3	9,7 ± 0,6

V - Conclusões e Propostas para Continuidade do Trabalho

O método desenvolvido é relativamente simples, de fácil operação e de baixo custo. O sistema para geração de hidreto, a cela de atomização e os acessórios necessários para a técnica F.I.A. são facilmente construídos e são materiais permanentes, portanto não encarecem o método.

A quantidade de borohidreto de sódio utilizada é pequena (100 µL de solução 0,40% em cada injeção). O cuidado que deve ser tomado durante a operação do sistema é a limpeza periódica (após aproximadamente 1000 injeções) da cela de atomização a fim de não haver perda de sensibilidade e repetibilidade do método, e a limpeza da placa de vidro sinterizado do separador gás-líquido quando na presença de espécies interferentes que podem formar precipitado com HCl ou serem reduzidas com NaBH₄.

Os sistemas de fluxo combinados à técnica de geração de hidretos mostraram-se bem versáteis e proporcionam a determinação de selênio de um grande número de amostras num tempo relativamente curto.

Nas condições experimentais otimizadas, os resultados obtidos para as variáveis que afetam a resposta analítica, para o método proposto foram: concentração de HCl = 1,0 mol/L, concentração de NaBH₄ = 0,40% (m/v), volume injetado – 100 µL, vazão dos carregadores – 1,5 mL/min, comprimento da bobina de reação – 20 cm, vazão do gás de arraste – 150 mL/min, tamanho do separador – 6 cm e temperatura de atomização = 750⁰C.

Nestas condições, o método apresentou uma frequência analítica de 140 amostras por hora e limite de detecção de 300 pg/mL de selênio.

O estudo de interferentes para o método em questão mostrou que vários elementos interferem na técnica de geração de hidreto para a determinação de selênio.

De acordo com os resultados obtidos, o uso da resina Dowex 50W-X8 mostrou-se eficiente para minimizar o efeito dos íons interferentes (Co(II), Ni(II), Cu(II), Ag(I), Cd(II), Zr(IV), Cr(III) e Fe(III)) da fase líquida para o método proposto.

Quanto a redução do efeito de interferência dos íons da fase gasosa, o uso da tiouréia 0,5% é suficiente para reduzir a interferência de Sn(II), Sn(IV), Sb(III), Sb(V), Bi(III), Hg(II) e Ge(IV). Para superar o efeito de interferência de As(III) e As(V) é necessário diminuir a acidez do meio reacional (HCl 0,1 mol/L) e utilizar tiouréia 0,5% como mascarante auxiliar ao efeito ácido. A solução de tiosemicarbazida 0,5% elimina o efeito de interferência de Te(VI).

Em se tratando de um processo de fluxo, diferente dos processos discretos geralmente utilizados, a associação da técnica F.I.A. em etapas de pré-concentração e eluição, apresenta um série de vantagens, não encontradas em procedimentos manuais de enriquecimento do íons a nível de traços. Desta maneira, os méritos da técnica de pré-concentração foram ampliados.

Os resultados obtidos através da associação da técnica F.I.A. na pré-concentração e determinação de selênio, evidenciam que:

- o sistema resina - Bis I apresenta vantagens na coleta seletiva e eluição do selênio, simplicidade e estabilidade do produto de reação na resina de acordo com o método proposto.
- a pré-concentração do selênio utilizando a coluna contendo Bis I suportado em resina de troca aniônica é satisfatória, já que ocorreu melhoramentos significativos em sensibilidade, requerimentos exigidos na determinação de selênio em baixas concentrações.
- apesar da velocidade analítica ter diminuído, em decorrência entre o tempo gasto na pré-concentração e o consumido na medida, esta velocidade é ainda superior àquela indicada na literatura (3 amostras/ hora) **(100)**.
- embora a programação do tempo seja uma característica da etapa de pré-concentração e eluição, pequenas diferenças no tempo cronometrado não acarretam flutuações nas medidas efetuadas visto que a precisão expressa como uma estimativa do desvio padrão é de 2,5% (50 ng Se/ml.).

- a eficiência de coleta do selênio na coluna de pré-concentração contendo Bis I/resina é de aproximadamente 100%, o que foi estimado determinando a quantidade de selênio após a passagem de solução padrão pela coluna.

- o tempo de durabilidade da coluna de pré-concentração é grande (aproximadamente 150 amostras), sendo que há um decréscimo no sinal analítico de 10% após 150 amostras. Então, é necessário uma re-calibração com as soluções padrão utilizadas nas medidas ou substituir a coluna por uma nova coluna.

Nas condições experimentais otimizadas, os resultados obtidos para as variáveis que afetam a resposta analítica, para o método desenvolvido com a etapa de pré-concentração foram: vazão de pré-concentração da amostra=1,8 mL/min, tempo de pré-concentração=120 segundos, vazão de eluição=1,8 mL/min, tempo de eluição=15 segundos, eluente=tiouréia 10,0% (m/v), coluna de pré-concentração=4,5 cm. impregnação de Bis I na resina=0,3mmol/g resina.

Neste estudo, o melhor limite de detecção foi obtido com as condições experimentais otimizadas, condição esta que também apresenta a maior sensibilidade apesar da linearidade ser apenas até 10 ng/mL contra os 80 ng/mL da condição do método sem a etapa de pré-concentração. Mas, isto não limita o método de pré-concentração, pois o limite de detecção alcançado nesta etapa torna o método desenvolvido superior a outros métodos para determinação de selênio **(100)**.

Considerando o método desenvolvido para a determinação de selênio sem a etapa de pré-concentração e com a etapa de pré-concentração, as figuras de mérito para ambos os métodos podem ser resumidas a seguir:

- sistema sem a etapa de pré-concentração:

linearidade: 1,0 a 80,0 ng Se/mL

precisão (desvio padrão relativo): 2,3% (100 ng Se/mL)

limite de detecção: 300 pg Se/mL (30 pg selênio)

frequência analítica: 140 determinações/hora

- sistema com a etapa de pré-concentração:

linearidade: 0.1 a 10.0 ng Se/mL

precisão (desvio padrão relativo): 2,5% (50 ng Se/mL)

limite de detecção: 30 pg Se/mL (3 pg selênio)

frequência analítica: 26 determinações/hora

Neste trabalho, foi possível mostrar que os parâmetros estudados no método F.I.A. , na técnica de geração de hidreto e na pré-concentração para a determinação de selênio possibilitaram a aplicação desta metodologia para diferentes matrizes. Assim, de acordo com as excelentes características e a facilidades de implantação deste sistema, espera-se que o método proposto seja aceito em laboratórios de análises para a determinação de selênio.

Desde que a toxicidade e a essencialidade do selênio dependem não somente da concentração, mas também das diferentes formas químicas presentes é de grande interesse o desenvolvimento de métodos analíticos para a especiação de selênio.

Devido a importância do selênio no meio ambiente, pretendemos dar continuidade a este trabalho, buscando viabilizar também a aplicação do método para a especiação de selênio, ou seja, para a determinação de Se(VI) em amostras de águas naturais e em amostras de águas de mar.

Considerando os resultados obtidos na determinação de selênio pelo sistema de pré-concentração desenvolvido e as excelentes características apresentadas pelo sistema, propõe-se a continuidade do projeto com o desenvolvimento de metodologia semelhantes para outros elementos de interesse, assim como a utilização de outros agentes complexantes que possam ser convenientemente usados em sistemas de pré-concentração com colunas em fluxo.

VI - Referências Bibliográficas

- 1 - SALTRE, B. "Analysis of trace elements and their physicochemical forms in natural waters." *Mikrochim. Acta.* **II** (1991) 29.
- 2 - SKEEGS, Jr., L.T. in RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. "Flow Injection Analysis", John Wiley & Sons, New York, 1981, p.9.
- 3 - RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. "Flow Injection Analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis." *Anal. Chim Acta.*, **78** (1975) 145.
- 4 - FANG, Z.L.; "Flow Injection separation and preconcentration". VCH, Weinheim, 1993.
- 5 - HAYGARTH, R.M.; ROWLAND, A.D.; STURUP, S.; JONES, K.C.; "Compararison of instrumental methods for the determination of total selenium in environmental samples", *Analyst* , **118** (1993) 1303.
- 6 - ZINGARO, R.A.; COPPER, W.C.; "Selenium", Van Nostrand Reinhold Company London, 1974.
- 7 - REEVES, R.D.; BROOKS, R.R.; "Trace element analysis of geological materials", John Wiley & Sons, New York, 1978.
- 8 - FLEISHER, M.; "The abundance and distribution of the chemical elements in the earth's crust ", *J. Chem. Educ.*, **31** (1954) 446.
- 9 - KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H.; "Trace elements in soil and plants", 1st ed., CRC Press, Flórida, 1985.

- 10 - BATLEY, G.E.: "Trace element speciation: analytical methods and problems. CRC Press, Florida, 1991.
- 11 - MERTZ, W.: "Trace elements in human and animal nutrition", 5th ed., Academic Press, New York, 1986.
- 12 - KOTHNY, F.I., Editor, "Trace elements in the environment", American Chemical Society, Washington D.C., 1973.
- 13 - WANG, D.; ALFTHAN, G.; ARO, A. "Determination of total selenium and dissolved selenium species in natural waters by fluorometry.", *Environ. Sci. Technol.*, **28** (1994) 383.
- 14 - SCHWARZ, K.; FOLTZ, C.M.: "Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration.", *J. Am. Chem. Soc.*, **79** (1957) 3293.
- 15 - SAVORY, J.; WILLS, M.R., "Trace metals: essential nutrients or toxins", *Clin. Chem.*, **38** (1992) 1565.
- 16 - BOSTICK, R.M.; POTTER, J.D.; MCKENZIE, D.R.; SELLERS, T.A.; KUSHI, L.H.; STEINMETZ, K.A.; FOLSOM, A.R.: "Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: The Iowa women's health study", *Cancer Res.*, **53** (1993) 4230.
- 17 - MERTZ, W.; CORNATZER, W.E.: "Newer trace elements in nutrition", Marcel Dekker, New York, 1971, Capítulos IV, V e VI.
- 18 - BOUIL, A.L.; BRIAND, P.; ALLAN, P.; DUPUIS, J.M.; GESLIN, P.; TADEI, A.: "Plasma selenium in congestive heart failure. *Clin Chem.* **38**, (1992) 1192.

- 19 - HASHIMOTO, Y.; WINCHESTER, J.W.: "Selenium in the atmosphere." *Environ. Sci. Technol.*, **1** (1967) 338.
- 20 - NEWBERNE, P.M.: "Trace substances and health - a handbook", Marcel Dekker, New York, 1976.
- 21 - TOLG, G.; GARTEN, P.H.: "Great fear of small amounts of element - the significance of analytical chemistry in our modern industrialized community as exemplified by trace element analysis.", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **24** (1985) 485.
- 22 - BRATTER, P.; SCHRAMEL, P.: "Trace element analytical chemistry in medicine and biology". Walter de Gruyter, Berlin, 1988.
- 23 - McMASTER, D.; BELL, N.; ANDERSON, P.; LOVE, A.H.G.: "Automated measurement of two indicators of human selenium status and applicability to population studies. *Clin. Chem.*, **36** (1990) 211.
- 24 - WATKINSON, J.H.: "Fluorometric determination of traces of selenium". *Anal. Chem.*, **32** (1960) 981.
- 25 - CHAN, F.L., "4,5 - diamino - 6 - thiopyrimidine as an analytical reagent - I spectrophotometric determination of selenium". *Talanta*, **11** (1964) 1019.
- 26 - AL-ATTAR, A.F.; NICKLESS, G.: "1,2 - diaminobenzene derivatives for the determination of selenium by gas chromatography". *J. Chromatogr.*, **440** (1988) 333.

- 27 - AL-ATTAR, A.F.; NICKLESS, G. "Determination of selenium by gas chromatography and comparison with graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Analyst*, **115** (1990) 1441.
- 28 - NIENIEWSKA, J.; CURTIUS, A.J.; "Determinação de arsênio em plantas por geração de hidreto e absorção atômica". *Quím. Nova*, **9** (1986) 194.
- 29 - HERSHEY, J.W.; KELIHER, P.N. "Observations on arsenic and selenium determinations using hydride generation atomic absorption and/or plasma emission spectrometry". *Appl. Spectrosc. Rev.*, **25** (1989-90) 213.
- 30 - WELZ, B.; STAUSS, P.; "Interferences from hydride-forming elements on selenium in hydride-generation atomic absorption spectrometry with a heated quartz tube atomizer". *Spectrochim. Acta*, **48B** (1993) 951.
- 31 - BUCKLEY, W.T.; BUDAC, J.J.; GODFREY, P.V.; KOENIG, K.M.; "Determination of selenium by inductively coupled plasma mass spectrometry utilizing a new hydride generation sample introduction system". *Anal. Chem.*, **64** (1992) 724.
- 32 - HOLAK, W.; "Gas sampling technique for arsenic determination by Atomic Absorption Spectrophotometry". *Anal. Chem.*, **41** (1969) 1712.
- 33 - BALUJA-SANTOS, C.; GONZALEZ-PORTAL, A. "Application of hydride generation to absorption atomic spectrometry of wines and beverages: A Review". *Talanta*, **39** (1992) 329.

- 34 - BROCKMANN, A.; NONN, C.; GOLLOCH, A.: "New concept for hydride generation technique. Electrochemical hydride generation." *J. Anal. At. Spectrom.*, **8** (1993) 397.
- 35 - BRINDLE, I.D.; ALARABI, H.; KARSHMAN, S.; LE, X.; ZHENG, S.; CHEN, H.: "Combined generator/separator for continuous hydride generation: application to on-line pre-reduction of arsenic (V) and determination of arsenic in water by atomic emission spectrometry". *Analyst*, **117** (1992) 407.
- 36 - YAMAMOTO, M.; TAKADA, K.; KUMAMURU, T.; YASUDA, M.; YOKOYAMA S.: "Membrane gas-liquid separator for flow injection hydride-generation atomic absorption spectrometry." *Anal. Chem.*, **59** (1987) 2446.
- 37 - GODDEN, R.G.; THOMERSON, D.R.: "Generation of covalent hydrides in atomic-absorption spectroscopy - A review". *Analyst*, **105** (1980) 1137.
- 38 - BRANCH, C.H.; HUTCHISON, D. ; "Simultaneous determination of arsenic and selenium in geochemical samples by hydride evolution and atomic absorption spectrometry: success and failure". *Analyst*, **110** (1985) 163.
- 39 - STURMAN, B.T.: "Development of a continuous flow hydride and mercury vapor generation accessory for atomic absorption spectrophotometry." *Appl. Spectrosc.*, **39** (1985) 48.
- 40 - TSALEV, D.L.; MANDJUKOV, P.B.; STRATIS, J.A. "Electrothermal atomization atomic absorption spectrometric determination of inorganic and methylated arsenic after preconcentration by hydride generation and trapping the hydrides in a cerium (IV)-iodide absorbing solution". *J. Anal. At. Spectrom.*, **2** (1987) 135.

- 41 - DEDINA, J.; "Evaluation of hydride generation and atomization for atomic absorption spectrometry". *Prog. Anal. Spectrosc.*, **11** (1988) 251.
- 42 - CHU, R.C.; BARRON, G.P.; BAUMGARNER, P.A.W.; "Arsenic determination at sub-microgram levels by arsine evolution and flameless atomic absorption spectrophotometric technique". *Anal. Chem.*, **44** (1972) 1476.
- 43 - THOMPSON, K.C.; THOMERSON, D.R.; "Atomic-absorption studies on the determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilising the generation of covalent hydrides". *Analyst*, **99** (1974) 595.
- 44 - PETTERSON, J. HANSSON, L. OLIN, A.; "Comparison of four digestion methods for the determination of selenium in bovine liver by hydride generation and atomic absorption spectrometry in a flow system.". *Talanta*, **33** (1986) 249.
- 45 - PARISIS, N.E.; HEYNDRICKX, A.; "Method for improving the sensitivity and reproducibility of hydride forming elements by Atomic Absorption Spectrometry". *Analyst*, **111** (1986) 281.
- 46 - CROCK, J.G.; LICHTER, F.E.; "An improved method for the determination of trace levels of arsenic and antimony in geological materials by automated hydride generation Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **144** (1982) 223.
- 47 - DEDINA, J.; FRECH, W.; LUNDBERG, E.; CEDERGEN, A.; "Atomisation of selenium hydride in the graphite furnace". *J. Anal. At. Spectrom.*, **4** (1988)143.

- 48 - ZHE-MING, N.; BIN, H.; HENG-BIN, H.: "Selenium determination in human urine by hydride generation-graphite furnace atomic absorption". *Can. J. Appl. Spectrosc.*, **38** (1993) 11.
- 49 - LEE, D.S.;"Determination of bismuth in environmental samples by flameless atomic absorption spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.*, **54** (1982) 1682.
- 50 - MARAWI, I.; WANG, J.; CARUSO, J.A. "Graphite furnace hydride pre-concentration and subsequent detection by inductively coupled plasma mass spectrometry". *Anal. Chim Acta.*, **291** (1994) 127.
- 51 - STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; SPROULE, G.I.; ROBINSON, P.T.; BERMAN, S.S.; "Sequestration of volatile element hydrides by platinum group elements for graphite furnace atomic absorption". *J. Spectrochim. Acta*, **44B** (1989) 667.
- 52 - ZHE-MING, N.; BIN, H.; HENG-BIN, H.; "In situ concentration of selenium and tellurium hydrides in a silver-coated graphite atomizer". *J. Anal.At. Spectrom.*, **8** (1993) 995.
- 53 - WELZ, B.; MELCHER, M. ;"Investigations on atomisation mechanisms of volatile hydride-forming elements in a heated quartz cell". *Analyst*, **108** (1983) 213.
- 54 - AGTERDENBOS, J.; BAX, D.;"Mechanisms in hydride generation atomic absorption spectrometry". *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **323** (1986) 783.

- 55 - BAX, D. ; VAN ELTEREN, J.T.; AGTERDENBOS, J.: "The determination of arsenic with hydride generation atomic Absorption spectrometry. A study of the factors influencing the reactions in the absorption cuvette". *Spectrochim. Acta*, **41B** (1986) 1007.
- 56 - VERLINDEN, M.; BAART, J.; DEELSTRA, H.: "Optimization of the determination of selenium by atomic absorption spectrometry : comparison of two hydride generation systems". *Talanta*, **27** (1980) 633.
- 57 - SMITH, A.E.;"Interferences in the determination of elements that form volatile hydrides with sodium borohydride using atomic absorption spectrophotometry and the argon-hydrogen flame". *Analyst*, **100** (1974) 300.
- 58 - PIERCE, F.D.; BROWN, H.R.;"Inorganic interference study of automated arsenic and selenium determination with Atomic Absorption Spectrometry". *Anal. Chem.*, **48** (1976) 693.
- 59 - KIRKBRIGHT, G.F.; TADDIA, M.;"Application of masking agents in minimizing interferences from some metal ions in the determination of arsenic by atomic absorption spectrometry with the hydride generation technique". *Anal. Chim. Acta*, **100** (1978) 145.
- 60 - MAYER, A.; HOFER, CH.; TOLG, G.; RAPTIS, S.; KNAPP, G.: "Elementquerstorungen bei der spurenanalytischen selenbestimmung nach den hydrid - AAS - verfahren". *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **296** (1979) 337.

- 61 - BAX, D.; AGTERDENBOS, J.; WORRELL, E.; BENEKEN KOLNER, J.: "The mechanism of transition metal interference in hydride generation atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta*, **43B** (1988) 1349.
- 62 - RODEN, D.R.; TALLMAN, D.E.: "Determination of inorganic selenium species in groundwaters containing organic interferences by ion chromatography and hydride generation atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, **54** (1982) 307.
- 63 - GOULDEN, P.D.; BROOKSBANK, P.: "Automated atomic absorption determination of arsenic, antimony and selenium in natural waters". *Anal. Chem.*, **46** (1974) 1431.
- 64 - DITTRICH, K.; MANDRY, R.: "Investigations into the improvement of the analytical application of the hydride technique in atomic absorption spectrometry by matrix modification and graphite furnace atomisation. Part II: Matrix interferences in the gaseous phase of hydride atomic absorption spectrometry". *Analyst*, **111** (1986) 277.
- 65 - HERSHEY, J.W.; KELIHER, P.N.: "Some hydride generation inter-element interference studies utilizing Atomic Absorption and ICP - Emission Spectrometry". *Spectrochim. Acta*, **41B** (1986) 713.
- 66 - ASTROM, O.: "Flow injection analysis for the determination of bismuth by atomic absorption spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.*, **54** (1982) 190.
- 67 - D'ULIVO, A.; PAPOFF, P.: "Non-dispersive atomic fluorescence spectrometric determination of lead by the hydride generation technique". *Talanta*, **32** (1985) 383.

- 68 - YU, X.A.; DONG, G.X.; LI, C.X.: "Twin-spray flame atomic absorption spectrometry determination of antimony, bismuth and mercury in geochemical samples". *Talanta*, **31** (1984) 367.
- 69 - BROWN, R.M.; FRY, R.C.; MOYERS, J.L.; NORTHWAY, S.J.; DENTON, M.B.; WILSON, G.S.: "Interference by volatile nitrogen oxides and transition metal catalysis in the preconcentration of arsenic and selenium as hydrides". *Anal. Chem.*, **53** (1981) 1560.
- 70 - CHAN, C.C. Y., "Determination of selenium in copper by hydride generation atomic absorption spectrometry after electrolytic removal of copper.", *Anal. Chem.*, **57** (1985) 1482.
- 71 - BOAMPONG, C.; BRINDLE, I.D.; LE, X.; PIDWERBESKY, L.; CECCARELLI PONZONI, C.M.: "Interference reduction by L-cystine in the determination of arsenic by hydride generation". *Anal. Chem.*, **60** (1988) 1185.
- 72 - BYE, R.; "Releasing effect of iron (III) and other oxidants on the interference from nickel in the determination of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry". *Analyst*, **111** (1986) 111.
- 73 - LAJUNEN, L.H.J.; MERKKINIEMI, T. ; HAYRYNEN, II.; "Influence of volatile hydride forming elements on antimony determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation". *Talanta*, **31** (1984) 709.

- 74 - BYE, R.; ENGVIK, L.; LUND, W.: "Tellurium (IV) as a masking agent for copper in the determination of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry". *Fresenius Z Anal. Chem.*, **318** (1984) 349.
- 75 - BRINDLE, I.D.; CECCARELLI PONZONI, C.M.: "Germanium determination by hydride generation atomic emission Spectrometry: simultaneous signal enhancement and interference suppression". *Analyst*, **112** (1987) 1547.
- 76 - FLEMING, H.D.; IDE, R.G.: "Determination of volatile hydride forming metals in steel by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **83** (1976) 67.
- 77 - HALICZ, L.: "Determination of germanium in silicate rocks and sulphide ores by hydride generation and flame atomic absorption spectrometry.". *Analyst*, **110** (1985) 943.
- 78 - EBDON, L.; WILKINSON, J.R. ; "The determination of arsenic and selenium in coal by continuous flow hydride generation atomic absorption spectrometry and atomic fluorescence spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **194** (1987) 177.
- 79 - THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B.; WALTON, S.J.; KIRKBRIGHT, G.F.;"Simultaneous determination of trace concentrations of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium in aqueous solution by introduction of the gaseous hydrides into an ICP source for emission spectrometry. Part II: Interference studies". *Analyst*, **103** (1978) 705.

- 80 - WICKSTROM, T.; LUND, W.; BYE, R. "Hydride generation atomic absorption spectrometry from alkaline solutions: determination of selenium in copper and nickel materials". *J.Anal. At. Spectrom.* , **6** (1991) 389.
- 81 - FADOR, P.; BARNES, R.M., "Determination of some hydride forming elements in urine by resin complexation and ICP atomic spectroscopy". *Spectrochim. Acta*, **38B** (1983) 229.
- 82 - JONES, J.W.; CAPAR, S.G.; O'HAVER, T.C.;"Critical evaluation of a multi element scheme using plasma emission and hydride evolution atomic absorption spectrometry for the analysis of plant and animal tissues". *Analyst*, **107** (1982) 353.
- 83 - HOWARD, G.; ARBAR-ZAVER, M.II.: "Determination of "inorganic" arsenic (III) and arsenic (V), "methylarsenic" and dimethylarsenic" species by selective hydride evolution atomic absorption spectroscopy". *Analyst*,**106** (1981) 213.
- 84 - VIJAN, P.N.; LEUNG, D.: "Reduction of chemical interference and speciation studies in the hydride generation atomic absorption method for selenium". *Anal. Chim. Acta*, **120** (1980) 141.
- 85 - KINGSTON, H.M.; BARNES, I.L.; BRADY, T.J.; RAINS, T.C.; CHAMP, M.A.; "Separation of eight transition elements from alkali and alkaline earth elements in estuarine and seawater with chelating resin their determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, **50** (1978) 2064.

- 86 - HERSHEY, J.W.; KELIHER, P.N.: "Some atomic absorption hydride generation inter element interference reduction studies utilizing ion exchange resins". *Spectrochim. Acta*, **44B** (1989) 329.
- 87 - VALCÁRCEL, M.; LUQUE DE CASTRO, M.D.: "Continuous separation techniques in flow injection analysis. A review". *J. Chromatogr.*, **393** (1987) 3.
- 88 - ORNEMARK, U.; PETTERSON, J.; OLIN, A.: "Determination of total selenium in water by atomic-absorption spectrometry after hydride generation and preconcentration in cold trap system". *Talanta*, **39** (1992) 1089.
- 89 - STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; BERMAN "Atomic absorption determination of trace metals in marine sediments and biological tissues using a stabilized temperature platform furnace". *J. Anal. At. Spectrom.*, **1** (1986) 115.
- 90 - STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; BERMAN, S.S.: "Atomic absorption determination of tin using in situ concentration of stannane in a graphite furnace". *Anal. Chem.* **59** (1987) 2441.
- 91 - STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; BERMAN, S.S.: "Atomic absorption determination of lead at picogram per gram levels by ethylation with in situ concentration in a graphite furnace". *Anal. Chem.*, **61** (1989) 1867.
- 92 - FANG, Z.; ZHU, Z.; ZHANG, S.; XU, S.; GUO, L.; SUN, L.: "On-line separation and preconcentration in flow injection analysis". *Anal. Chim. Acta*, **214** (1988) 41.

- 93 - TERADA, K. . "Preconcentration of trace elements by sorption".
Anal. Sci., **7** (1991) 187.
- 94 - PAI, S.C.; WHUNG, P.Y.; LAI, R.L.; "Pre-concentration efficiency of Chelex-100 resin for heavy metals in seawater. Part I. Effects of pH and salts on the distribution ratios of heavy metals". *Anal. Chim. Acta*, **211**(1988) 257.
- 95 - BURBA,P. "Anion exchangers functionalized by chelating reagents (AnChel) for preconcentration of trace elements: capabilities and limitations." *Fresenius J. Anal. Chem.*, **341** (1991) 709.
- 96 - NAKAYAMA, M.; CHIKUMA, M. ; TANAKA, H.; TANAKA, T.: "Selective collection of selenium (IV) on anion-exchange resin with azothio-pyrene disulphonic acid". *Talanta*, **30** (1983) 455.
- 97 - NAKAYAMA, M.; CHIKUMA, M.; ITOH, K.; SAKURAI, H. TANAKA,T.; "Anion-exchange resin modified with bismuthiol II, as a new functional resin for the selective collection of selenium (IV)". *Talanta*, **31** (1984) 269.
- 98 - NAKAYAMA, M.; TANAKA, T. TANAKA, M.; CHIKUMA, M. ITOH, K. SAKURAI, H. TANAKA, H.; NAKAGAWA,T.;"Sequential collection of selenium (IV) and selenium (VI) by the use of an anion exchange resin loaded with bismuthiol II sulfonic acid". *Talanta*, **34** (1987) 435.

- 99 - ITOH, K. CHIKUMA, M.; NISHIMURA, M.; TANAKA, T.; TANAKA, M.; NAKAYAMA, M.; TANAKA, H.: "Determination of selenium (IV) and other forms of selenium dissolved in sea water by anion exchange resin loaded with sulfonic acid derivative of bismuthiol II and hydride generation atomic absorption spectrometry". *Fresenius' Z Anal. Chem.*, **333** (1989) 102.
- 100 - AOYAMA, E.; ALKAMATSU, K. NAKAGAWA, T. TANAKA, H. ; "Flow injection analysis with on-line preconcentration of trace selenium". *Anal. Sci.*, **7** (1991) 617.
- 101 - FANG, Z.L.; XU, S.; ZHANG, S.; "Fundamental and practical considerations in the design of on line column preconcentration for flow injection atomic spectrometric systems". *Anal. Chim. Acta*, **200** (1987) 35.
- 102 - FANG, Z.L.; RUZICKA, J. HANSEN, E.H.; "An efficient flow injection system with on line ion exchange preconcentration for the determination of trace amounts of heavy metals by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **164** (1984) 23.
- 103 - FANG, Z.L.; DONG, I.P.; XU, S.K.; "Critical evaluation of the efficiency and synergistic effects of Flow Injection techniques for sensitivity enhancement in Flame Atomic Absorption Spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **7** (1992) 293.
- 104 - HARTSTEIN, S.D.; RUZICKA, J. CHRISTIAN, G.D.; "Sensitivity enhancements for flow injection analysis Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an on line preconcentration ion exchange column". *Anal. Chem.*, **57** (1985) 21.

- 105 - LI, C.; TSALEV, D.L.: *Colloquium Spectroscopicum Internationale*, Sofia. Vol 7 (1989) *apud* FANG, Z.L.: *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH, Weinheim, 1993, p 88.
- 106 - BERGAMIN F^O, H.; REIS, B.F.; JACINTHO, A.O.; ZAGATTO, E.A.G. "Ion exchange in flow injection analysis. Determination of ammonium ions at the $\mu\text{g.L}^{-1}$ level in natural waters with pulsed nessler reagent". *Anal. Chim. Acta*, **117** (1980) 81.
- 107 - BERGAMIN F^O, H.; MEDEIROS, J.X.; REIS, B.F. ; ZAGATTO, E.A.G.; "Solvent extraction in continuous flow injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, **101** (1978) 9.
- 108 - CADORE, S. "Determinação de Bismuto por absorção atômica com geração de hidretos (BiH_3) em um sistema de injeção em fluxo." Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, SP, Brasil, 1991.
- 109 - CHAPMAN, J.F.; DALE, L.S.; "Atomic absorption spectrometric determination of some elements forming volatile hydrides with a heated cell atomizer and gas handling system". *Anal. Chim. Acta*, **111** (1979)137.
- 110 - WELZ, B.; MELCHER, M. "Determination of selenium in nickel-based materials by hydride generation". *Analyst*, **109** (1984) 569.
- 111 - FANG, Z.L.; SPERLING, M.; WELZ, B. "Comparison of three propulsion systems for application in flow-injection zone penetration dilution and sorbent extraction preconcentration for flame atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **269** (1992) 9.
- 112 - OGURA, H.; OGUMA, K.; "Determination of molybdenum and vanadium in seawater by ion-exchange preconcentration - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Microchem. J.*, **49** (1994) 220.

APÊNDICE A

Soluções de interferentes:

- Solução de Ag(I) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,7874 g de AgNO_3 (Merck) com água desionizada, completando-se o volume 100,00 mL: num balão volumétrico.
- Solução de As(III) 1030 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 1,7880 g de NaAsO_2 (Carlo Erba) com HCl 0,5 mol/L completando-se o volume a 100,00 mL com o ácido.
- Solução de As(V) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 1,0420 g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck) em 50,00 mL de água desionizada.
- Solução de Bi (III) 1020 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,5098 g de bismuto metálico (J.T. Baker) em 3 mL HCl concentrado e 1,5 mL de HNO_3 concentrado, aquecendo-a e evaporando-a até quase secar. A solução foi diluída a 500,00 mL com HCl 1,0 mol/L.
- Solução de Cd (II) 1000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,1000 g de cádmio metálico (Merck) em ácido clorídrico concentrado e aquecimento, transferindo-se a um balão volumétrico de 100,00 mL e completando-se o volume com água desionizada.
- Solução de Co (II) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveram-se 2,4713 g de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker) com água desionizada e completou-se a 100,00 mL, em balão volumétrico
- Solução de Cr (III) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveram-se 3,8497 g de $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Riedel) com água desionizada e completou-se a 100,00 mL, em balão volumétrico.

- Solução de Cu (II) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,7858 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Ecibra) em 100,00 mL de água desionizada.

- Solução de Fe(II) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 1,7561 g de $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Carlo Erba) com água desionizada e completou-se a 100,00 mL em balão volumétrico.

- Solução de Fe(III) 1000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,8635 g de $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Merck) em 100,00 mL de HCl 0,5 mol/L.

- Solução de Ge (IV): 718 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,1035 g de GeO_2 (Merck) em 5 mL KOH 0,05 mol/L e completou-se a 100,00 mL com água desionizada, em balão volumétrico.

- Solução de Hg(II) 1100 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 1,4726 g de HgCl_2 (Merck) em 1000,0 mL de HCl 10%.

- Solução de Mn(II) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 1,7992 g de $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck) em 100,00 mL de água desionizada.

- Solução de Ni(II) 5000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveram-se 2,0240 g de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Riedel) com água desionizada e completou-se 100,00 mL, em balão volumétrico.

- Solução de Pb(II) 1000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,1599 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Ecibra) em 100,00 mL de água desionizada.

- Solução de Sb(III) 1000 $\mu\text{g/mL}$: Dissolveu-se 0,1197 g de Sb_2O_3 (Merck) em HCl 4 mol/L, completando-se o volume a 100,00 mL com o mesmo ácido.

-
- Solução de Sb(V) 5000 µg/mL: Dissolveu-se 1,0428 g de $K_2H_2Sb_2O_7 \cdot 4H_2O$ (Carlo Erba) com água desionizada e completou-se 100,00 mL, em balão volumétrico.
 - Solução de Sn(II) 5000 µg/mL: Dissolveu-se 0,9505 g de $SnCl_2$ (QM. ACS) em HCl 3 mol/L e completou-se a 100,00 mL com o mesmo ácido.
 - Solução de Sn (IV) 10000 µg/mL: Dissolveram-se 2,1947 g de $SnCl_4$ (Merck) em HCl 2 mol/L e completou-se a 100,00 mL com o mesmo ácido.
 - Solução de Te (VI) 1000 µg/mL: Dissolveu-se 0,2500 g de telúrio metálico (Merck) em 20 mL de HCl concentrado e 2 mL de HNO_3 concentrado, aquecendo-a e evaporando-a até quase secar. A solução foi diluída a 250,00 mL com água desionizada.
 - Solução de Ti (IV) 1200 µg/mL: Misturou-se 1,1054 g de TiO_2 (Merck) com 10,0031 g de $K_2S_2O_7$. Fundiu-se em cadinho de platina, usando bico de Bunsen, até obter um líquido amarelo-claro. Deixou-se no fogo por 5 minutos, retirando a seguir e deixando esfriar. Transferiu-se a massa (branca) para balão volumétrico de 500,00 mL, dissolvendo-a com H_2SO_4 6%.
 - Solução de Zn (II) 1000 µg/mL: Dissolveu-se 1,0000 g de zinco metálico (J.T. Baker) previamente tratado com HCl 2%, para eliminar possíveis contaminações na superfície, com HCl 6 mol/L e aquecimento. Após a dissolução a solução foi diluída a 1000,0 mL com água desionizada.
 - Solução de Zr (IV) 10022 µg/mL: Dissolveu-se 1,9570 g de $ZrOCl_2$ (Merck) com água desionizada e completou-se a 100,0 mL, em balão volumétrico.

APÊNDICE B

Dados a respeito das amostras utilizadas.

- Amostra de urina certificada:

Tabela VII.1 - Valores certificados dos elementos constituintes em amostras de urina SRM 2670

elemento	unidade de concentração	nível baixo	nível elevado	método
alumínio	µg/mL	(0,18)	(0,18)	a
arsênio	µg/mL	(0,06)	0,48±0,10	a,g
berílio	µg/mL	(< 0,0005)	(0,033)	a
cádmio	µg/mL	(0,00040)	0,088±0,003	a,f
cálcio	mg/mL	0,105±0,005 ^A	0,105±0,005	c,h
cloreto	mg/mL	(4,4)	(4,4)	e
cromo	µg/mL	(0,013)	0,085±0,006	a,f
cobre	µg/mL	0,13±0,02	0,37±0,03	a,h
ouro	µg/mL	(0,008 ng/mL)	(0,24)	j
chumbo	µg/mL	(0,01)	0,109±0,004	f
magnésio	mg/mL	0,063±0,003	0,063±0,003	b,d
mangânes	µg/mL	(0,03)	(0,33)	b,h
mercúrio	µg/mL	(0,002)	0,105±0,008	a,g
níquel	µg/mL	(0,07)	(0,30)	h
platina	µg/mL	(0,008 ng/mL)	(0,12)	a,j
potássio	mg/mL	(1,5) ^B	(1,5)	c,h
selênio	µg/ml	0,030±0,008	0,46±0,03	a,i
sódio	mg/mL	2,62±0,14	2,62±0,14	c,d
sulfato	mg/mL	(1,3)	(1,3)	e
vanádio	µg/mL	-	(0,12)	f

^A A incerteza dos valores certificados são no intervalo de tolerância de 95% de nível confiança para faixa de 99% das amostras SRM 2670.

^B Valores informativos, em parenteses, não são certificados.

Métodos Analíticos usados:

a - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica

b - Espectrometria de Absorção Atômica por Chama

c - Espectrometria de Emissão por Chama

- d - Espectrometria por Plasma Inductivamente Acoplado
- e - Cromatografia iônica
- f - Espectrometria de Massa por Diluição isotópica Térmica
- g - Análise por Ativação de Neutrons
- h - Espectrometria de Emissão por Plasma DC
- i - Espectrometria de Massa por Diluição Isotópica Spark
- j - Análise por Ativação de Neutrons Radioquímica

- Amostra de aço certificado:

Tabela VII.2 - Valores certificados dos elementos constituintes em amostra de aço NIST-SRM 361:

Elemento	% em peso	µg/mL
mangânes	0,66	6600
cobre	0,042	420
níquel	2	20000
cromo	0,69	6900
cobalto	0,32	3200
arsênio	0,017	170
estanho	0,010	100
antimônio	0,0042	42
prata	0,0004	4,0
selênio	0,004	40

- Formulação para água de mar sintética **(112)**:

Água de mar sintética (para 1 litro de solução):

28,0 g NaCl

5,5 g MgCl₂.6H₂O

3,4 g MgSO₄

2,0 g CaCl₂.2H₂O

APÊNDICE C

Condições Experimentais para o Forno de Grafite

(usadas com as amostras de medicamentos)

Volume de amostra em HNO₃ 0,2%: 20 µL

Volume do Modificador Químico: 5 µL

[Modificador: 0,02 mg Ni + 0,025 mg Mg(NO₃)₂]

	etapa1	etapa2	etapa3	etapa4	etapa5
T °C	120	900	2100	2500	20
Rampa, s	10	45	0	1	1
Sustent., s	20	10	3	2	50