



**UNICAMP**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**ANÁLISE DE SUSPENSÕES DE MATERIAIS BIOLÓGICOS  
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA:  
NOVAS ALTERNATIVAS EM ATOMIZAÇÃO EMPREGANDO  
ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA**

Orientado: EDENIR RODRIGUES PEREIRA FILHO

Químico

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Co-orientador: Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi

CAMPINAS  
Estado de São Paulo – Brasil  
Março de 2003

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP

P414a Pereira Filho, Edenir Rodrigues  
Análise de suspensões de materiais biológicos por espectrometria de absorção atômica: novas alternativas em atomização empregando análise quimiométrica / Edenir Rodrigues Pereira Filho. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientador: Marco Aurélio Zezzi Arruda  
Co-orientador: Ronei Jesus Poppi

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Espectrometria de absorção atômica.  
2. Modificadores químicos. 3. Suspensões de amostras biológicas. 4. Quimiometria. I. Arruda, Marco Aurélio Zezzi. II. Poppi, Ronei Jesus.  
III. Universidade Estadual de Campinas IV. Título.

Dedico esta Tese de Doutorado aos meus pais, Maria do Carmo e Edenir, e às minhas irmãs, Elaine e Eliene, pelo incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida e do meu trabalho.

Dedico, também, em especial ao meu grande amor, Fabíola, que sempre me apóia nos momentos de dúvida, tristeza e alegria. A todos o meu muito obrigado!

*Conhecimento é orgulhar-se de saber muito;  
Sabedoria é constatar que não se sabe mais nada.*

William Cowper

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao orientador Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda pela orientação e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Universidade Estadual de Campinas e, em especial, ao Instituto de Química pelas condições de trabalho e oportunidades de estudo e aprimoramento.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo apoio financeiro.

Agradeço aos colegas (atuais e não presentes) do Grupo de Espectrometria, Preparo de Amostras e Mecanização (GEPAM) e do Laboratório B-200 a 204.

Agradeço aos professores e doutores João Carlos de Andrade (IQ – UNICAMP), Joaquim de Araújo Nóbrega (DQ – UFSCar), Francisco José Krug (CENA – USP) pelas discussões e conselhos sobre este trabalho de doutorado.

Agradeço aos senhores Carlos Alberto Pérez (LNLS) e Marcelo Martins Sena (IQ – UNICAMP) pelo apoio no desenvolvimento dos trabalhos sobre microfluorescência de raios-X e PARAFAC, respectivamente.

Agradeço ao Prof. Dr. Harald Berndt (ISAS – Alemanha) pela excelente acolhida em seu grupo de pesquisa e estimulantes discussões sobre TS-FF-AAS e química analítica, e ao Dr. Peter Jacob pelo apoio durante minha estada na Alemanha.

Agradeço à Senhora Alba Rosa Lijó pelo apoio e aconselhamento nos momentos decisivos.

Agradeço aos funcionários do Instituto de Química da UNICAMP pela colaboração e atenção.

## RESUMO

### ANÁLISE DE SUSPENSÕES DE MATERIAIS BIOLÓGICOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA: NOVAS ALTERNATIVAS EM ATOMIZAÇÃO EMPREGANDO ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

Autor: Edenir Rodrigues Pereira Filho

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Co-orientador: Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi

Este trabalho descreve novas estratégias analíticas voltadas para a análise de suspensões biológicas. Diversas condições analíticas foram otimizadas em ETAAS para a determinação de Al, Cd e Pb. Inicialmente, estas otimizações foram feitas utilizando soluções aquosas de referência, e foram testados seis modificadores químicos permanentes: Ir, Mo, Pd, Rh, W e Zr. Plataformas de L'vov foram tratadas com modificadores individuais – 250 µg ou em combinações – 500 µg (250 µg de Zr + 250 µg de W ou 250 µg de Zr + 250 µg de Rh). As temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas com planejamento fatorial (11 experimentos para cada analito):  $2^2$  (variáveis normalizadas em -1 e +1) + estrela (variáveis normalizadas em  $-\sqrt{2}$  e  $+\sqrt{2}$ ) + ponto central (variáveis normalizadas em 0). As melhores temperaturas de pirólise e atomização para o Al foram 1100 e 2400°C; para o Cd e o Pb as temperaturas foram, respectivamente, 500 e 1500°C; e 910 e 1850°C. Com a ajuda dos dados experimentais obtidos e PCA, o Zr foi escolhido como o modificador permanente preferencial. Amostras biológicas não certificadas e certificadas foram utilizadas para a determinação dos metais e avaliação do desempenho do Zr. Suspensões destas amostras biológicas foram preparadas em HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v) e a energia ultra-sônica foi empregada na homogeneização. Suspensões de leite em pó comercial (1% m/v) foram empregadas na determinação do Al. Cinco plataformas de L'vov foram tratadas com 500 µg de Zr no início dos experimentos. Elas foram submetidas a 50, 100, 150, 200 e 500 ciclos de aquecimento para a determinação do Al. Devido à alta temperatura de atomização necessária para a

determinação do Al, as plataformas foram re-tratadas com 500 µg de Zr após terem sido submetidas a 50 ciclos de aquecimento. Na determinação do Al as plataformas mantiveram-se estáveis até, aproximadamente, 500 ciclos de aquecimento. Cádmio e Pb foram determinados em fígado bovino (CRM 1577b) e folhas de faia (CRM 100), respectivamente; em ambos os casos a concentração das suspensões foi 0,4% (m/v). Na determinação do Cd e Pb os fornos de grafite (tratados com 500 µg de Zr) apresentaram boas condições de trabalho e estabilidade até 1100 e 860 ciclos de aquecimento, respectivamente. Nesta situação, apenas um tratamento com Zr (500µg) foi feito no início dos experimentos. Com a finalidade de fazer uma investigação mais completa, duas plataformas novas foram também estudadas e uma delas foi tratada com 500 µg de Zr. Algumas plataformas foram tratadas com modificadores convencionais: Mg (determinação de Al) e Pd + Mg (determinação de Cd e Pb), objetivando uma comparação do desempenho do Zr como modificador químico permanente. Após os experimentos foi usada a µSRXRF para determinar a presença de elementos residuais nas plataformas. Utilizando a PARAFAC como ferramenta quimiométrica, combinada com os resultados obtidos com a µSRXRF, foi concluído que plataformas tratadas com modificadores convencionais apresentaram mais elementos residuais (principalmente, Ca, Fe, P e S) do que aquelas tratadas com Zr. Por outro lado, a PCA de imagens mostrou superfícies com comportamentos diferentes em uma mesma plataforma. Além disso, micrografias (aumento de 500 vezes) das plataformas tratadas com Zr e usadas na determinação de Al foram similares às plataformas novas. Neste caso, o Zr pode ser usado para a preservação da superfície da plataforma. Um mecanismo foi proposto para atomização do Al e foi determinado que, simultaneamente, duas vias de atomização provavelmente apareceram. Na primeira via o Zr foi constantemente re-utilizado (mecanismo para as laterais das plataformas) e no segundo, o Zr foi perdido como ZrO (mecanismo proposto para a parte central das plataformas). Na última parte deste trabalho foi proposta uma nova estratégia e uma boa alternativa para a análise de suspensões utilizando a TS-FF-AAS. Neste trabalho cinco amostras certificadas e três não certificadas foram preparadas em HNO<sub>3</sub> 0,3 mol/L e introduzidas em um tubo de Ni (99% de Ni) localizado em uma chama oxidante de ar/acetileno. Este tubo de Ni

possuía 10 cm de comprimento, 12 mm de d.e. e 10 mm de d.i.. Na parte de baixo do tubo foram feitos 6 furos para a entrada parcial da chama no interior do mesmo. O tamanho de partícula das amostras foi estimado em 100  $\mu\text{m}$  e as concentrações das suspensões variaram de 0,1 a 1,0% (m/v). Na introdução das soluções de referência e suspensões foi empregado um capilar cerâmico com 0,50 mm de d.i. e um fluxo carregador de 0,4 mL/min. A frequência analítica foi estimada em 12 determinações/h e os L.D. para Cd, Cu e Pb foram 0,5 , 4 e 4  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente. Os resultados obtidos com TS-FF-AAS foram comparados com ETAAS (plataformas tratadas com 500  $\mu\text{g}$  de Zr) e não foi encontrada alguma diferença significativa ao nível de confiança de 95%.

## ABSTRACT

### BIOLOGICAL SLURRIES ANALYSIS USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY: TRENDS IN ATOMIZATION EMPLOYING CHEMOMETRIC ANALYSIS

Author: Edenir Rodrigues Pereira Filho

Adviser: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Co-adviser: Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi

This work describes new analytical strategies devoted to biological slurry analysis. Several analytical conditions for Al, Cd and Pb determinations were optimized in ETAAS. These optimizations were made using standard aqueous solutions and six permanent chemical modifiers were tested: Ir, Mo, Pd, Rh, W and Zr. L'vov platforms were treated with individual modifiers – 250  $\mu\text{g}$  or some combinations - 500  $\mu\text{g}$  (250  $\mu\text{g}$  Zr + 250  $\mu\text{g}$  W or 250  $\mu\text{g}$  Zr + 250  $\mu\text{g}$  Rh). The pyrolysis and atomization temperatures were optimized with factorial design (11 experiments for each analyte):  $2^2$  (variables normalized in  $-1$  and  $+1$ ) + star (variables normalized in  $-\sqrt{2}$  and  $+\sqrt{2}$ ) + central point (variables normalized in 0). For Al the best pyrolysis and atomization temperatures were 1100 and 2400°C; for Cd and Pb optimization the temperatures were, respectively, 500 and 1500°C and 910 and 1850°C. With the aid of obtained experimental data and PCA, Zr was elected as the preferential permanent modifier. For metal determinations and Zr performance evaluation, uncertified and certified biological samples were used. Biological slurry samples were prepared in 0.2 % (v/v)  $\text{HNO}_3$  and ultrasound energy was used for its homogenization. For Al determination, commercial milk powder slurry (1% w/v) was employed. Five L'vov platforms were covered with 500  $\mu\text{g}$  of Zr at the beginning of the experiments. They were submitted to 50, 100, 150, 200 and 500 heating cycles for Al determination. Due to the high atomization temperatures needed for Al determination, the platforms were re-treated with 500  $\mu\text{g}$  Zr after being submitted to 50 heating cycles. In Al determination the platforms were stable up to around 500 heating cycles. Cadmium and Pb were

determined in bovine liver (CRM 1577b) and beech leaves (CRM 100), respectively; in both cases the slurries concentration was 0.4 % (w/v). In the Cd and Pb determinations the graphite furnace (treated with 500  $\mu\text{g}$  Zr) presented a good working condition and stability up to 1100 and 860 heating cycles, respectively. In this situation, only one treatment with Zr (500  $\mu\text{g}$ ) was made at the beginning of the experiments. In order to make a more complete investigation two new platforms were also studied and one of them was covered with 500  $\mu\text{g}$  of Zr. Some platforms were treated with conventional modifiers: Mg (Al determination) and Pd + Mg (Cd and Pb determinations), aiming at comparing the Zr performance as permanent modifier.  $\mu\text{SRXRF}$  was used to determine the presence of residual species in platforms after the experiments. Using PARAFAC as a chemometric tool, combined with the results obtained with  $\mu\text{SRXRF}$ , it was concluded that platforms treated with conventional modifiers presented more residual species (mainly Ca, Fe, P and S) than those treated with Zr. On the other hand, Image PCA showed different surfaces behaviors in a same platform. In addition, micrographs (500 magnification) taken from platforms treated with Zr and used for Al determination were similar to new platforms. In this case, the Zr can be used for platform surface preservation. An Al atomization mechanism was proposed and it was determined that two atomization courses might probably appeared simultaneously. In the first course, the Zr was constantly reused (mechanism for the L'vov platforms edges) and in the second, the Zr was lost as ZrO (mechanism proposed for the central part of platforms). In the last part of this work it was proposed a new strategy and a good alternative for slurries analysis using TS-FF-AAS. In this work five certified and three uncertified samples were prepared in 0.3 mol/L  $\text{HNO}_3$  and introduced into a Ni tube (99% of Ni) located in an oxidizing air/acetylene flame. This Ni tube had 10 cm length, 12 mm o.d. and 10 mm i.d.. There were 6 holes at the bottom of the Ni tube to allow a partial entrance of the flame. The samples particle size was around 100  $\mu\text{m}$  and the slurry concentrations varied from 0.1 to 1.0 % (w/v). A ceramic capillary with 0.50 mm i.d. was used for slurries and standard solutions introduction and the flow rate was 0.4 mL/min. The analytical frequency was estimated in 12 determinations/h and the D.L. for Cd, Cu and Pb were

0.5,  $4 \times 10^4$   $\mu\text{g/L}$ , respectively. The results obtained with TS-FF-AAS were compared with ETAAS (platforms treated with 500  $\mu\text{g}$  Zr) and it was not found a significant difference at 95% of confidence level.

# SÚMULA CURRICULAR

## 1 – Dados Pessoais

Nome: Edenir Rodrigues Pereira Filho

Data de nascimento: 24 de Maio de 1975

Naturalidade: Colatina – ES

e – mail: [erpf@uol.com.br](mailto:erpf@uol.com.br)

Web site: <http://sites.uol.com.br/erpf>

## 2 – Formação Acadêmica

**Doutorado em Química Analítica** (1999 – 2003)

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Instituto de Química

**Mestrado em Química Analítica** (1997 – 1999)

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Instituto de Química

**Bacharelado em Química** (1993 – 1996)

Pontifícia Universidade Católica de Campinas – PUCCAMP

## 3 – Histórico Profissional

**Estagiário Docente** (2002)

Disciplinas: Métodos em Química Analítica Instrumental (primeiro semestre) e  
Química Geral Experimental (segundo semestre)

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Instituto de Química

**Assistente de Pesquisa** (1994 – 1997)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) – Centro Nacional de Pesquisa de  
Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental (CNPMA)

Jaguariúna – SP

**Supervisor de Produção** (1993 – 1994)

Duravin Resinas e Tintas Ltda

Campinas – SP

#### 4 – Principais comunicações em eventos científicos

- **Application of  $\mu$ SRXRF for investigating metal distribution in the Ni tube inner surface after slurry analyses by TS-FF-AAS** (Apresentação oral) – VIII Seminário Latino-Americano de Análises por Técnicas de Raios-X – Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Nova Frigurgo/Rio de Janeiro-Brasil – (Novembro de 2002)
- **Direct determination of cadmium, copper and lead in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction** (Apresentação Oral) - VII Rio Symposium on Atomic Spectrometry - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/Santa Catarina-Brasil – (Abril de 2002)
- **Use of X-ray microfluorescence with synchrotron radiation in studies related to permanent chemical modification in L'vov platform** - XXXII Colloquium Spectroscopicum Internationale (Pretória – África do Sul) – (Julho de 2001)
- **Preliminary studies related to permanent chemical modifiers for lead and cadmium determination e Investigation of L'vov platform morphology after slurry analysis: A study of case** - VI Rio Symposium on Atomic Spectrometry - Universidad de Concepción, Concepción/Pucón – Chile (Dezembro de 2000)
- **Determinação espectrofotométrica catalítica de cobalto: Emprego de redes neurais e algoritmos genéticos para otimização do método** - XXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - Poços de Caldas/MG – (Maio de 1998)
- **On-Line microwave slurry sample digestion by using a flow injection system: Spectrophotometric determination of iron in seafood** - VII International Conference on Flow Analysis, Águas de São Pedro/SP – (Agosto de 1997)

#### 5 – Patente

**“Sistema automático em fluxo para a introdução de amostras com posterior digestão utilizando forno de microondas”** - nº do Pedido/Patente: PI9900398-8 - Data do Depósito INPI: 09/02/1999

#### 6 –Publicações

- Matos, G. D.; Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z., **Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens**, *Analytica*, no prelo.
- Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z., **Atomização com chama e eletrotérmica: (re) apresentando alternativas**, *Anais da Associação Brasileira de Química*, no prelo.
- Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z.; Petrus, R. R.; Faria, J. A. F., **Automated monossegmented system for hydrogen peroxide determination at low levels**, *Journal of Flow Injection Analysis*, 2002, **19**, 125-128.
- Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z., **Emprego de planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS**,

- Química Nova*, 2002, **25**, 246-253.
- Pereira-Filho, E. R.; Berndt, H.; Arruda, M. A. Z., **Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, **17**, 1308-1315.
  - Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z., **Metals distribution and investigation of L'vov platform surface using Principal Component Analysis, Multi-way Principal Component Analysis, micro Synchrotron Radiation X-ray Fluorescence and Scanning Electron Microscopy after Al determination in slurry milk sample**, *Spectrochimica Acta Part B*, 2002, **57**, 1259-1276.
  - Coelho, L. M.; Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z., **On-line mechanised microwave biological fluid decomposition and off-line calcium and magnesium determination by flame atomic absorption spectrometry**, *Química Analítica (Barcelona)*, 2002, **20**, 243-249.
  - Pereira-Filho, E. R.; Mello, C.; Costa-Filho, P. A.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.; **A Neuro-genetic approach for optimization of the spectrophotometric catalytic determination of cobalt**, *Analytica Chimica Acta*, 2001, **433**, 111-117.
  - Pereira-Filho, E. R.; Maniasso, N.; Zagatto, E. A. G.; Arruda, M. A. Z., **Flow analysis and micellar media: Potentialities and application in spectrophotometry**, *Journal of Flow Injection*, 2001, **18**, 150-155.
  - Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z., **Exploratory analysis of micrographic Teflon images**, *Mikrochimica Acta*, 2001, **136**, 55-60.
  - Pereira-Filho, E. R.; Pérez, C. A.; Arruda, M. A. Z., **X-ray microfluorescence with synchrotron radiation in the L'vov platform studies**, *Activity Report-Laboratório Nacional de Luz Síncrotron*, Campinas-SP, 2001, 89-90.
  - Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z., **Mechanised flow system for on-line microwave digestion of food samples with off-line catalytic spectrophotometric determination of cobalt at ng l<sup>-1</sup> levels**, *Analyst*, 1999, **124**, 1873-1877.
  - Pereira-Filho, E. R.; Rohwedder, J. J. R.; Arruda, M. A. Z., **On-line microwave slurry sample digestion using flow systems for the spectrophotometric determination of iron in seafood**, *Analyst*, 1998, **123**, 1023-1028.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE FIGURAS .....	xx
LISTAS DE QUADROS .....	xxiv
LISTA DE TABELAS .....	xxv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xxvi
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. MOTIVAÇÃO.....	2
1.2. OBJETIVOS GERAIS.....	3
2. REFERÊNCIAS.....	4
CAPÍTULO 1 .....	5
1. OBJETIVOS .....	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
2.1. ESPECTROMETRIA ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA.....	6
2.2. MODIFICADORES QUÍMICOS .....	7
2.3. MODIFICADORES QUÍMICOS PERMANENTES.....	9
2.4. EMPREGO DE PLANEJAMENTO FATORIAL EM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA.....	12
2.5. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS - PCA .....	15
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	17
3.1. MATERIAL .....	17
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES .....	17
3.3. OTIMIZAÇÃO DAS TEMPERATURAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE Cd, Pb, Mo E Al.....	18
3.4. TRATAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV.....	19
3.5. EXPERIMENTOS EXECUTADOS NA OTIMIZAÇÃO POR PLANEJAMENTO FATORIAL.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. ESTUDOS PARA O Cd E Pb .....	21
4.2. ESTUDOS PARA O Mo.....	28

4.3. ESTUDOS PARA O AI .....	29
4.4. CONSIDERAÇÕES SOBRE O EMPREGO DE PLANEJAMENTO FATORIAL EM ETAAS .....	31
4.5. ESCOLHA DO MODIFICADOR QUÍMICO PERMANENTE .....	33
5. CONCLUSÃO PARCIAL .....	35
6. REFERÊNCIAS .....	37
CAPÍTULO 2 .....	40
1. OBJETIVOS .....	41
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	41
2.1. EMPREGO DE SUSPENSÕES EM ETAAS .....	41
2.2. EMPREGO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM ETAAS .....	45
2.3. RADIAÇÃO SÍNCROTRON.....	47
2.3.1. LABORATÓRIO NACIONAL DE LUZ SÍNCROTRON .....	48
2.3.2. MICRO SONDA DE FLUORESCÊNCIA RAIOS-X.....	49
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	51
3.1 MATERIAL .....	51
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES .....	52
3.3. AMOSTRAS .....	52
3.4. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE AI .....	53
3.5. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb .....	55
3.6. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV .....	58
3.7. INVESTIGAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb .....	59
3.8. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb NAS AMOSTRAS CERTIFICADAS .....	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE AI.....	62
4.2. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb.....	64
4.3. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV – DETERMINAÇÃO DE AI .	67
4.4. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV – DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb.....	73
4.5. ESTUDO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd E	

Pb.....	76
4.6. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb EM AMOSTRAS CERTIFICADAS .....	78
5. CONCLUSÃO PARCIAL .....	80
6. REFERÊNCIAS .....	82
CAPÍTULO 3 .....	85
1. OBJETIVOS .....	86
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	86
2.1. IMAGENS.....	86
2.2. PCA DE IMAGENS .....	87
2.3. PARAFAC .....	91
2.4. TERMOGRAVIMETRIA.....	93
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	93
3.1. MATERIAL .....	93
3.2. PCA DE IMAGENS – PLATAFORMAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DE Al, Cd E Pb.....	94
3.3. EMPREGO DO PARAFAC.....	95
3.4. TERMOGRAVIMETRIA.....	98
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
4.1. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – RESULTADOS PARA O Al .....	99
4.2. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – RESULTADOS PARA Cd e Pb .....	101
4.3. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – ESTUDO GLOBAL .....	102
4.4. APLICAÇÃO DO PARAFAC.....	104
4.5. TERMOGRAVIMETRIA.....	113
4.6. PROPOSTA DE POSSÍVEIS MECANISMOS DE ATOMIZAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE Al .....	116
5. CONCLUSÃO PARCIAL .....	118
6. REFERÊNCIAS .....	119
CAPÍTULO 4 .....	121
1. OBJETIVOS .....	122
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	122
2.1. SPRAY TÉRMICO.....	124

3. PARTE EXPERIMENTAL.....	126
3.1. MATERIAL .....	126
3.2. TUBOS METÁLICOS .....	127
3.3. REAGENTES E SOLUÇÕES .....	128
3.4. AMOSTRAS .....	128
3.5. PREPARO DAS SUSPENSÕES.....	129
3.6 CONFIGURAÇÃO DO SISTEMA.....	129
3.7. BOMBA DE DIAFRAGMA .....	130
3.8. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA .....	132
3.9. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE, ATMOSFERA INTERNA E CONFIGURAÇÃO DO TUBO DE NÍQUEL.....	134
3.10. INVESTIGAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb.....	134
3.11. DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu, Pb E TESTES COMPARATIVOS COM ETAAS .....	135
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	136
4.1. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA .....	136
4.2. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE, ATMOSFERA INTERNA E CONFIGURAÇÃO DO TUBO DE NÍQUEL.....	139
4.3. ESTUDO DO EFEITO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb .....	142
4.4. DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb .....	144
4.5. RESULTADOS E CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS .....	147
4.6. TUBO DE Ni .....	149
4.6.1. Estudos com micro sonda de fluorescência de raios-X.....	153
4.6.2. Mecanismo de atomização.....	156
5. CONCLUSÃO PARCIAL .....	157
6. REFERÊNCIAS.....	159
1. CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	160

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Configuração de um planejamento fatorial  $2^2$  + ponto central + estrela, onde o círculo central representa o experimento no ponto central (variáveis normalizadas em zero), o quadrado com círculos nas arestas representa o fatorial  $2^2$  (variáveis normalizadas em  $-1$  e  $+1$ ), e o losango com pequenos quadrados nas arestas representa o fatorial em estrela (variáveis normalizadas em  $-\sqrt{2}$  e  $+\sqrt{2}$ ). ..... 14
- Figura 2: Decomposição da matriz de dados  $\mathbf{X}$  (N linhas e M colunas) em vetores de *scores* ( $t_i$ ), *loadings* ( $p_i$ ) e uma matriz de erros  $\mathbf{E}$ . ..... 16
- Figura 3: Representação do pré-processamento de 10 variáveis fictícias (retângulos). Em (a) temos as variáveis originais, em (b) as mesmas variáveis centradas na média (média igual a zero) e em (c) temos as variáveis auto-escaladas (média igual a zero e desvio padrão igual a 1). ..... 16
- Figura 4: Superfícies de resposta, gráficos de contorno e equações obtidas na determinação de Cd com o emprego de Pd (a), Zr (b), W (c) e Zr + W (d) como modificadores químicos permanentes. .... 23
- Figura 5: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equações obtidas na determinação de Cd com o emprego de Rh como modificador químico permanente. .... 26
- Figura 6: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equação obtidos na determinação de Pb com o emprego de Zr como modificador químico permanente. .... 26
- Figura 7: Superfícies de resposta, gráficos de contorno e equações obtidas na determinação de Pb com o emprego de Rh (a), W (b) e Zr + Rh (c) como modificadores químicos permanentes. .... 27
- Figura 8: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equação obtida na determinação de Al com o emprego de Mg como modificador químico convencional. .... 30
- Figura 9: Otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Cd tendo Zr como modificador químico permanente. Os círculos sólidos representam os 11 experimentos fatoriais (Tabela 3). Os quadrados abertos representam 17 experimentos executados na forma univariada. .... 31
- Figura 10: Massas características obtidas para Al (a), Cd (b), Mo (c) e Pb (d) em todos os experimentos com modificadores químicos convencionais e permanentes. A primeira coluna (sem modificador) corresponde a determinação do metal na ausência de modificador químico permanente ou convencional. As outras colunas, P + Mg, Pd + Mg e Mg correspondem à modificação convencional, e as demais colunas marcadas com Pd, Rh, Zr, W, Ir, Zr + Rh e Zr + W correspondem ao uso de modificadores químicos permanentes. .... 32
- Figura 11: Gráficos dos *scores* (a, c) e dos *loadings* (b, d) para os modificadores químicos permanentes estudados. Para os símbolos, vide Tabela 9. .... 35
- Figura 12: Esquema do anel de armazenamento do LNLS: acelerador linear (retângulo tracejado), dipolo, anel de armazenamento com aproximadamente 29 m de diâmetro e estação experimental. .... 49
- Figura 13: Procedimento usado na obtenção das micrografias a partir das plataformas de L'vov. Os 10 quadrados ilustram as micrografias obtidas a um intervalo aproximado de 1 mm. .... 54
- Figura 14: Micrografias obtidas de várias plataformas de L'vov, onde: (a) plataforma nova, (b) plataforma nova e tratada com Zr, (c-g) plataformas com 50, 100, 150, 200 e 500 ciclos de aquecimento, tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Al em suspensão de leite em pó, e (h) plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada com Mg e também empregada na determinação de Al na mesma amostra. .... 56
- Figura 15: Micrografias obtidas de plataformas de L'vov tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (c); e tratadas com Pd + Mg e usadas na determinação de Cd (b) e Pb (d). .... 57
- Figura 16: Esquema representando as varreduras efetuadas na linha XRF do LNLS. A seta indica o ponto final das varreduras (7000  $\mu\text{m}$ ). .... 59
- Figura 17: Disposição do tubo de quartzo, microscópio ótico, detector e amostra durante as varreduras

das plataformas de L'vov na linha XRF do LNLS.....	59
Figura 18: Perda de massa (mg) em função das etapas de trabalho para as plataformas que atingiram 500 ciclos de aquecimento (Zr – quadrados vazios e Mg – círculos cheios), onde CD representa o condicionamento da plataforma, as setas representam os tratamentos com Zr, e os números de 50 a 500 representam os ciclos de aquecimento.....	63
Figura 19: Absorbância integrada (quadrados) para plataformas tratadas com Zr (a) e Mg (b) e utilizadas na determinação de Al em suspensões de leite em pó (concentração de Al na suspensão, aproximadamente, igual a 12 µg/L). Cada quadrado corresponde à média de 10 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 10 determinações. ....	64
Figura 20: Resultados obtidos na determinação de Cd (concentração de Cd na suspensão, aproximadamente, igual a 2 µg/L) em uma suspensão de fígado bovino. Em (a) temos as determinações efetuadas com o Zr e em (b) com a mistura Pd + Mg. Cada quadrado corresponde à média de 5 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 5 determinações. ....	66
Figura 21: Resultados obtidos na determinação de Pb (concentração de Pb na suspensão, aproximadamente, igual a 65 µg/L) em uma suspensão de folhas de faia. Em (a) temos as determinações efetuadas com o Zr e, em (b), com a mistura Pd + Mg. Cada quadrado corresponde à média de 5 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 5 determinações. ....	67
Figura 22: Espectro de fluorescência de raios-X obtido para a plataforma nova e tratada com 500 µg de Zr. Em destaque temos os sinais para as linhas K $\alpha$ do Ar (2,96 KeV) e Zr (15,77 KeV). ....	68
Figura 23: Resultado da varredura da plataforma nova e tratada com 500 µg de Zr.....	69
Figura 24: Resultados das varreduras para as plataformas com 50 (a), 100 (b), 150 (c) e 200 (d) ciclos de aquecimento e tratadas com Zr para determinação de Al em leite em pó.....	70
Figura 25: Resultado da varredura para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento e utilizada na determinação de Al em leite em pó. ....	70
Figura 26: Sobreposição da imagem da plataforma tratada com Zr e com 500 ciclos de aquecimento com o resultado da varredura (Figura 25). ....	71
Figura 27: Resultados das varreduras de Hf (a) e Ti (b), para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada com Zr e utilizada na determinação de Al em leite em pó. ....	72
Figura 28: Resultado da varredura de Ca para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada de maneira convencional com Mg e utilizada na determinação de Al em leite em pó. ....	72
Figura 29: Resultados das varreduras de Ca (a), Fe (b), P (c) e S(d) para a plataforma tratada com Pd e Mg e utilizada na determinação de Cd em Fígado bovino.....	74
Figura 30: Resultado da varredura de Pd para as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b). ....	74
Figura 31: Resultado da varredura de Ca para as plataformas tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b). ....	75
Figura 32: Resultado da varredura de Zr para as plataformas tratadas com este metal e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b). ....	75
Figura 33: Resultado da varredura de Hf (a) e Ti (b) para a plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Cd em fígado bovino.....	76
Figura 34: Resultado da varredura de Ti para a plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Pb em folhas de faia. ....	76
Figura 35: Variação da absorbância integrada na determinação de Cd – 4 µg/L (a) e Pb – 50 µg/L (b) tendo o Ca (quadrados cheios), K (triângulos vazios e invertidos), Mg (círculos vazios) e Na (triângulos cheios) como possíveis concomitantes. As linhas tracejadas representam as médias das absorbâncias integradas (Cd – 0,25 e Pb – 0,17) $\pm$ 10%. ....	77
Figura 36: Estudo das temperaturas de pirólise na determinação de Cd (círculos) em uma solução de Cd 2 µg/L (a), suspensões de fígado bovino (b), folhas de faia (c) e farinha integral (d). No caso	

do Pb (quadrados) temos uma solução de Pb 50 µg/L (e) e uma suspensão de folhas de faia (f). Em todos os casos foram empregadas plataformas tratadas de forma permanente com Zr.....	79
Figura 37: Comparação entre PCA de imagens e técnicas clássicas.....	88
Figura 38: Geração do arranjo tridimensional <b>G</b> e seu desdobramento em uma longa matriz <b>G</b> .....	89
Figura 39: Geração da matriz <b>Z</b> : multiplicação da matriz <b>G'</b> por <b>G</b> tendo como resultado <b>Z</b> .....	90
Figura 40: Decomposição de um arranjo tridimensional em tríades e uma matriz de erros <b>E</b> .....	92
Figura 41: Superfície de resposta para cada elemento (Ca – a, Fe – b, Hf – c, P – d, Pd – e, S – f, Ti – g, Zr – h) encontrado nas varreduras com µSRXRF nas plataformas da Tabela 14.....	96
Figura 42: Ilustração da formação do arranjo para posterior aplicação do PARAFAC.....	98
Figura 43: Gráfico dos <i>loadings</i> obtido a partir da PCA de imagens. As estrelas e quadrados vazios representam, respectivamente, as plataformas novas com e sem tratamento com Zr; os quadrados cheios representam as plataformas com 50, 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento e tratadas com Zr; os triângulos invertidos e os círculos representam as micrografias obtidas das plataformas tratadas com Mg e Zr e com 500 ciclos de aquecimento, respectivamente. A letra C corresponde às micrografias obtidas da parte central das plataformas com 500 ciclos de aquecimento, e tratadas com Zr ou Mg.....	100
Figura 44: Micrografias da parte central (posição 5 – ver Figura 13) das plataformas tratadas com Zr (a) e Mg (b) e com 500 ciclos de aquecimento.....	101
Figura 45: Gráfico dos <i>loadings</i> obtido a partir da PCA de imagens. Os losangos e estrelas representam, respectivamente, as plataformas novas com e sem tratamento com Zr (a); os círculos e estrelas cheias representam as plataformas tratadas com Zr, e utilizadas na determinação de Cd e Pb (b), respectivamente. Os quadrados e triângulos cheios representam as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd e Pb (c), respectivamente.....	102
Figura 46: Gráfico dos <i>loadings</i> obtido a partir da PCA de imagens com todas as 12 plataformas. Os triângulos representam as plataformas novas com e sem tratamento com Zr; os quadrados representam as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd e Pb. Os círculos representam as plataformas tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Al, Cd e Pb; as estrelas representam a plataforma tratada com Mg e utilizada na determinação de Al e as estrelas vazias (ver elipse) representam a parte central desta plataforma.....	103
Figura 47: Resultados encontrados com o PARAFAC para os fatores 1 e 2 (a, d – plataformas; b, e – elementos; c, f– posição da varredura).....	107
Figura 48: Resultados encontrados com o PARAFAC para o fator 3 (a – plataformas; b – elementos; c – posição da varredura).....	109
Figura 49: Resultados encontrados com o PARAFAC para os fatores 4 e 5 (a, d – plataformas; b, e – elementos; c, f– posição da varredura).....	110
Figura 50: Resultados encontrados com o PARAFAC para o fator 6 (a – plataformas; b – elementos; c – posição da varredura).....	111
Figura 51: Curvas termogravimétricas (linhas contínuas) e derivadas (linhas tracejadas) para as plataformas: nova – plataforma 1 (a), nova e tratada com Zr – plataforma 2 (b), tratada com Zr e utilizada na determinação de Al por 500 ciclos de aquecimento – plataforma 7 (c) e tratada com Pd+Mg e utilizada na determinação de Cd – plataforma 9 (d).....	114
Figura 52: Resultado da PCA efetuada com as derivadas das curvas termogravimétricas. Em (a) temos o gráfico dos <i>scores</i> , onde os números identificam as plataformas (mesma numeração utilizada na Tabela 14). As colunas com linhas horizontais e quadrados representam as plataformas tratadas com Zr e modificadores convencionais, respectivamente. Em (b) temos o gráfico dos <i>loadings</i> , onde a área com quadrados compreende a faixa de temperatura de 30 a 650°C e a área com linhas horizontais a faixa de 651 a 966°C.....	115
Figura 53: Curvas termogravimétricas (linhas contínuas) e derivadas (linhas tracejadas) das partes: central (a) e final (b) da plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Al por 500 ciclos de aquecimento – plataforma 7 (Tabela 14).....	115

Figura 54: Configuração da TS-FF-AAS e BIFF-AAS. Em ambos os casos são utilizados sistemas em fluxo e um tubo na chama. ....	126
Figura 55: Bomba de diafragma, onde 1 é o diafragma, 2 é o corpo da bomba, 3 é a câmara de movimentação, 4 é o suporte do diafragma, 5 dispositivo de movimentação, 6 é a conexão entre o dispositivo de movimentação e o suporte do diafragma, 7 é o local de trabalho do diafragma e 8 são as válvulas de sucção e pressão. Em (a) e (b) temos a bomba expulsando e efetuando a sucção, respectivamente. ....	131
Figura 56: Configuração final do spray térmico, onde BD é a bomba de diafragma, M é um manômetro para monitorar a pressão do sistema, RC é o reservatório do carregador, SA é um dispositivo para diminuir os pulsos da bomba de diafragma, V é a válvula para amostragem e injeção da amostra, Q é o queimador, CS é o capilar do spray térmico, TA é o tubo atomizador e CR1 (0,5 mm de d.i. e 11 cm de comprimento) e CR2 (0,13 mm de d.i. e 150 cm de comprimento) são os capilares de PEEK para regulação dos fluxos. ....	132
Figura 57: Micrografia da amostra de folhas de tomate. O aumento foi de 150 vezes. ....	133
Figura 58: Gráficos de contorno obtidos nas otimizações do volume da amostra, e do fluxo do carregador, ao se empregar Ni 201 (a), Ni 200 (b) e MA 956 (c). ....	137
Figura 59: Estudo do d.i. do capilar cerâmico. Foram introduzidos 300 µL de uma solução 8 µg/L de Cd, e o fluxo carregador foi de 0,4 mL/min. ....	138
Figura 60: Estudo do efeito da concentração de HNO <sub>3</sub> no preparo das suspensões. ....	139
Figura 61: Sinais analíticos para a determinação de Pb empregando tubos de Ni com 6 e 12 furos (a), introdução de O <sub>2</sub> (b), tubo sem furos e solução preparada em metanol (c), adição de PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> e Zr (d), emprego de sistema monossegmentado (e) e introdução frontal de O <sub>2</sub> (f). ....	141
Figura 62: Influência de Ca (quadrados), Mg (círculos), Na (triângulo cheio) e K (triângulo vazio e invertido) na determinação de Cd (a), Cu (b) e Pb (c). As linhas tracejadas representam a absorbância média ± 10%. ....	143
Figura 63: Influência de Fe, Cu, Zn e Mn na determinação de Pb. ....	144
Figura 64: Sinais analíticos obtidos na determinação de Cd. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente. ....	145
Figura 65: Sinais analíticos obtidos na determinação de Cu. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente. ....	146
Figura 66: Sinais analíticos para o Pb. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente. ....	146
Figura 67: Tubo de Ni cortado em quatro segmentos: frontal, posterior, inferior e superior. ....	150
Figura 68: Micrografias (aumento de 400x) da superfície interna (a), e externa (b) do tubo de Ni utilizado nos trabalhos e da superfície de impacto (c) do spray térmico. ....	151
Figura 69: Micrografia da superfície interna de um tubo de Ni 201 novo (aumento de 500x). Na legenda no canto inferior esquerdo temos: a escala utilizada, onde o traço negro corresponde a 100 µm, em seguida temos a aceleração de voltagem (20 KV), a data de obtenção da micrografia (12 de Junho) e a seqüência da micrografia (segunda a ser obtida). ....	152
Figura 70: Composição da superfície do tubo de Ni em diferentes posições. ....	152
Figura 71: Imagem da superfície de impacto do spray térmico com 32 vezes de aumento e obtida com sistema analisador de imagens, composto de lupa e máquina fotográfica digital. ....	153
Figura 72: Ni(%) nas superfícies frontal (a), inferior (b), superior (c), externa (d), impacto (e) e nova (f). ....	155
Figura 73: Resultados das varreduras para o Ca (a) e Ni (b) na superfície de impacto do spray térmico. ....	156
Figura 74: Sobreposição da imagem do local das varreduras da área de impacto do spray térmico (Figura 71) com os gráficos de contorno das superfícies obtidas na varredura para o Ca (a) e Ni (b). As linhas em preto, vermelho e amarelo, representam a intensidade de fluorescência (K $\alpha$ ) para o Ca (a) e Ni (b). ....	156

## LISTAS DE QUADROS

Quadro 1: Histórico do desenvolvimento das condições STPF [2].....	7
Quadro 2: Aplicações de modificadores químicos permanentes em ETAAS.....	12
Quadro 3: Aplicações de amostras na forma de suspensões em ETAAS .....	45
Quadro 4: Principais características operacionais do LNLS [51].....	48
Quadro 5: Algumas aplicações da análise de imagens.....	87
Quadro 6: Composição (%) dos tubos atomizadores empregados na etapa de otimização. Para C, Si, Mn, P e S as concentrações indicadas são as máximas encontradas.....	127

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Condições recomendadas, bem como massas características obtidas nestas condições, para a determinação de Cd, Pb, Mo e Al. ....	19
Tabela 2: Programa para tratamento das plataformas de L'vov. ....	19
Tabela 3: Planejamento fatorial usado para Pb e Cd. ....	20
Tabela 4: Planejamento fatorial usado para Mo e Al. ....	21
Tabela 5: Programas de aquecimento empregados nos experimentos para o Cd, Pb, Mo e Al. ....	21
Tabela 6: Resultados obtidos na ausência de modificadores químicos e nas condições recomendadas .....	22
Tabela 7: Resultados obtidos na otimização das temperaturas de pirólise e atomização para determinação de Al. ....	29
Tabela 8: Resultados obtidos para determinação de Al na ausência e na presença de modificadores químicos permanentes. ....	30
Tabela 9: Propriedades físico-químicas empregadas na PCA [63]. ....	34
Tabela 10: Variáveis estudadas na otimização das condições de operação da sonda ultra-sônica. ....	55
Tabela 11: Planejamento fatorial empregado nos estudos com concomitantes. ....	61
Tabela 12: Resultados para os efeitos das variáveis estudadas na otimização das condições da sonda ultra-sônica. ....	65
Tabela 13: Concentrações de Cd e Pb ( $\mu\text{g/g}$ ) em amostras certificadas e resultados encontrados nas amostras certificadas na forma de suspensão e mineralizadas ( $n = 5$ para todas as suspensões e igual a 3 para as mineralizações). ....	80
Tabela 14: Resumo das informações levantadas durante as varreduras no LNLS. ....	95
Tabela 15: Resumo das informações extraídas do PARAFAC. ....	112
Tabela 16: Efeitos obtidos para o volume da amostra (VA) e fluxo do carregador (F), e equações obtidas após execução dos experimentos fatoriais. ....	137
Tabela 17: Resultados encontrados para o Cd. ....	148
Tabela 18: Resultados encontrados para o Cu. ....	148
Tabela 19: Resultados encontrados para o Pb. ....	149
Tabela 20: Resultados encontrados para o Cd, Cu e Pb nas amostras não certificadas de extrato de tomate (ET). ....	149

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês, <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> )
BCR	<i>Community Bureau of Reference</i>
BIFF-AAS	<i>Beam Injection Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
CORCONDIA	<i>Core Consistency Diagnostic</i>
CRM	Material Certificado de Referência (do inglês, <i>Certified Reference Material</i> )
d.e.	Diâmetro Externo
d.i.	Diâmetro Interno
EDL	<i>Electrodeless Discharge Lamps</i>
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (do inglês, <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> )
ETA-W	<i>Tungsten Coil Electrothermal Atomizer</i>
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês, <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
HPLC-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção com Arranjo de Diodos (do inglês, <i>High-performance Liquid Chromatography – Diode-array Detection</i> )
ICP-MS	Espectroscopia de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
ICP-OES	Espectroscopia de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Optical Emission Spectroscopy</i> )
JIN	<i>Jet Impact Nebulization</i>
LD	Limite de Detecção
LPAT	<i>Long-path Absorption Tube Technique</i>
LQ	Limite de Quantificação
$m_0$	Massa Característica
$\mu$ SRXRF	Microfluorescência de Raios-X com Radiação Síncrotron (do inglês, <i>Micro Synchrotron Radiation X-ray Fluorescence</i> )
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
N-PLS	<i>n-way Partial Least Square</i>

PARAFAC	<i>Parallel Factor Analysis</i>
PCA	Análise de Componentes Principais (do inglês, <i>Principal Component Analysis</i> )
PEEK	Poliéter Éter Cetona
<i>Pixel</i>	Contração das palavras <i>Picture Elements</i>
QSAR	<i>Quantitative Structure-activity Relationships</i>
RSD	Desvio Padrão Relativo (do inglês, <i>Relative Standard Deviation</i> )
SEM	Microscopia de Varredura Eletrônica (do inglês, <i>Scanning Electron Microscopy</i> )
SS-ETV-ICP-MS	<i>Solid Sampling Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
STAT	<i>Slotted-tube Atom Trap</i>
STM	<i>Scanning Tunneling Microscopy</i>
STPF	<i>Stabilized Temperature Platform Furnace</i>
TIF	<i>Tube in Flame</i>
TS-FF-AAS	<i>Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
WCAT	<i>Water-cooled Atom Trap</i>
XRF	Fluorescência de Raios-X (do inglês, <i>X-ray Fluorescence</i> )

## 1. INTRODUÇÃO

O trabalho realizado nesta Tese de doutorado envolveu, fundamentalmente, três tópicos distintos: (1) estudos em espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), (2) utilização de estratégias quimiométricas e (3) desenvolvimento de uma nova metodologia analítica em absorção atômica com chama. O desenvolvimento deste trabalho contou com emprego de uma gama de técnicas que geraram inúmeros e variados dados.

No tocante à ETAAS, esta configura-se como uma alternativa atraente, principalmente com o emprego de superfícies grafiticas modificadas de modo permanente, uma vez que o uso de modificadores químicos (convencionais ou permanentes) se tornou um procedimento de rotina na ETAAS [1].

Conseqüência do contínuo desenvolvimento tecnológico em todos os campos da química analítica, observa-se o surgimento de alternativas cada vez mais rápidas, gerando uma elevada quantidade de dados numéricos [2]. Um exemplo é a análise direta da amostra na forma de suspensões, por ETAAS, visando a determinação de diversos metais. Este procedimento contribui de forma marcante na aquisição de dados, pois o tempo gasto nas etapas prévias de tratamento das amostras pode significativamente ser minimizado [3]. Entretanto, a aplicação de ferramentas estatísticas/quimiométricas ainda é praticamente inexplorada neste contexto. Sabe-se que a quimiometria pode ser utilizada na compreensão de uma variedade de informações originadas de um sistema [4], permitindo ganho de tempo e exatidão na otimização desde parâmetros para mineralização de amostras [5] até parâmetros instrumentais para determinação de, por exemplo, Hg [6].

Dentro desta realidade, aplicações da quimiometria em ETAAS (planejamento fatorial + PCA + PCA de imagens + PARAFAC), a que esta Tese se propõe, configuram-se como um importante avanço na elucidação de fenômenos referentes ao emprego da espectrometria de absorção atômica na análise de suspensões. Desta forma, contribui para a obtenção de dados cada vez mais exatos, precisos e, portanto, confiáveis.

Além da contribuição de ferramentas quimiométricas deve-se destacar o emprego de micro sonda de fluorescência de raios-X na análise exploratória. Esta técnica tornou-se um instrumento analítico importante, ao ser utilizada juntamente com uma fonte de raios-X potente. Estas fontes podem ser encontradas em laboratórios de luz síncrotron, possibilitando o mapeamento de elementos químicos (principalmente metais) em diversas amostras, e de forma não destrutiva [7,8].

No que se refere ao desenvolvimento de novas metodologias analíticas, os trabalhos propostos por Gáspár e Berndt [9,10] possibilitaram que a FAAS fosse empregada de maneira criativa e inovadora. Nestes trabalhos os autores prolongaram, com o auxílio de um tubo metálico, o tempo de residência de átomos na chama. Este procedimento permitiu o aumento do tempo de residência de 10 ms (chama convencional) para aproximadamente 150 ms. A nova técnica foi chamada de TS-FF-AAS. Estes avanços têm sua importância ressaltada quando o foco é a determinação de metais como, Al, Cd, Cu e Pb, em estudos de caráter ambiental ou de saúde. No que se refere ao Cd e Pb, suas maiores fontes provêm da contaminação dos alimentos, sendo que, outras fontes podem existir como, por exemplo, atividades de mineração, uso de tintas e fabricação de baterias [11, 12]. A ingestão diária tolerável é de 70  $\mu\text{g}$  para o Cd [13] e de 100 a 300 mg para o Pb [12]. Já o Al pode ser responsável por diversos danos aos tecidos e células do sistema nervoso central e, a possível ligação entre o Al e o mal de Alzheimer vem estimulando o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à determinação deste elemento químico a baixas concentrações usualmente encontradas em fluidos ou tecidos biológicos [14]. A sua ingestão diária varia de 2,5 a 13 mg [15].

O Cu é um elemento essencial para várias funções biológicas, fisiológicas e integridade estrutural de vários tecidos [16]. A deficiência de Cu está relacionada com anemia, mas sua ingestão excessiva pode causar complicações hepáticas. A ingestão diária de Cu varia de 0,9 a 2,2 mg [17].

## 1.1. MOTIVAÇÃO

A motivação principal deste trabalho está na sempre crescente necessidade de se determinar, com precisão e exatidão, níveis cada vez menores de espécies

químicas. Esta realidade tem exigido o desenvolvimento de novos procedimentos analíticos/instrumentais, visando a melhora na sensibilidade, estabilidade e/ou seletividade do sistema analítico empregado. Para estimular este desenvolvimento é necessário um melhor entendimento dos fenômenos envolvidos. Por outro lado, este mesmo avanço, especialmente no campo da eletrônica e dos recursos computacionais [18,19], tem viabilizado estudos onde a quantidade de informações geradas inviabiliza quaisquer tratamentos estatísticos mais clássicos, sendo de grande valia a utilização de métodos quimiométricos.

Para um melhor entendimento desta Tese de doutorado, a mesma foi dividida em quatro capítulos. O primeiro deles trata do emprego de modificadores químicos permanentes na otimização das condições de determinação de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS. Nesta etapa, empregou-se planejamento fatorial na otimização das temperaturas de pirólise e atomização. O segundo capítulo trata da aplicação de modificadores químicos permanentes na determinação de Al, Cd e Pb em amostras biológicas na forma de suspensão. Os recobrimentos com modificador químico permanente foram avaliados empregando-se micro-sonda de fluorescência de raios-X, disponível no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS. O terceiro capítulo introduz a PCA de imagens na análise exploratória de imagens. A PCA de imagens foi aplicada a imagens micrográficas provenientes de plataformas de grafite. Além da aplicação da PCA, foi mostrada a utilização da PARAFAC no estudo das varreduras executadas no LNLS. No quarto capítulo, foram mostrados os resultados de uma nova perspectiva analítica ao se empregar a TS-FF-AAS na determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de alimentos na forma de suspensão.

## **1.2. OBJETIVOS GERAIS**

Os objetivos gerais desta Tese de doutorado estão voltados na utilização de suspensões de amostras de alimentos. Nestas amostras foram determinados Al, Cd, Cu e Pb por ETAAS e Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS, tendo como foco o emprego de novos sistemas atomizadores, modificadores químicos permanentes e convencionais, estratégias quimiométricas, análise de imagens e microfluorescência de raios-X.

## 2. REFERÊNCIAS

- [1] Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 147.
- [2] Valcárcel, M., *Trends Anal. Chem.*, 1997, **16**, 124.
- [3] Bendicho, C.; Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 353.
- [4] Beebe, K. R.; Kowalski, B. R., *Anal. Chem.*, 1987, **59**, 1017A.
- [5] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Muñiz-Naveiro; Gómez-Fernández, A. M. J.; Bermejo-Barrera, A., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 1351.
- [6] Izgi, B.; Demir, C.; Gücer, S., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 971.
- [7] Adams, F.; Janssens, K.; Snigirev, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 319.
- [8] Rindby, A., *X-ray Spectrom.*, 1993, **22**, 187.
- [9] Gáspár, A.; Berndt, H., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 587.
- [10] Gáspár, A.; Berndt, H., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **372**, 695.
- [11] Gouveia, M. A., *Andrologia*, 1988, **20**, 225.
- [12] Goyer, R. A.; Mehlman, M. A., ***Advances in Modern Toxicology***. New York: John Wiley & Sons, v. 2, 1977.
- [13] Alloway, B. J., ***Heavy metals in soils***. Londres: Blackie A & P, 1995.
- [14] Arruda, M. A. Z.; Quintela, M. J.; Gallego, M.; Valcárcel, M., *Analyst*, 1994, **119**, 1695.
- [15] ***Environmental Health Criteria 194 Aluminium***, Geneva: World Health Organization, 1997.
- [16] Werman, M. J.; Bhatena, S. J.; Turnlund, J. R., *J. Nutr. Biochem.*, 1997, **8**, 201.
- [17] ***Environmental Health Criteria 200***, Genebra: World Health Organization, 1998.
- [18] Geladi, P.; Isaksson, H.; Lindqvist, L.; Wold, S.; Esbensen, K., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1989, **5**, 209.
- [19] Geladi, P.; Grahn, H., ***Multivariate Image Analysis***, New York: John Wiley & Sons, Inc., 1996.

---

---

## CAPÍTULO 1

### **OTIMIZAÇÃO DAS TEMPERATURAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE Cd, Pb, Mo e Al POR ETAAS: EMPREGO DE MODIFICADORES QUÍMICOS PERMANENTES E PLANEJAMENTO FATORIAL**

Parte das informações deste capítulo foram publicadas no seguinte artigo científico:

Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.. Emprego de planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS. *Química Nova*, 2002, **25**, 246.

---

---

## 1. OBJETIVOS

Compõem os objetivos deste primeiro capítulo a apresentação dos resultados obtidos para otimização das temperaturas de pirólise e atomização para determinação de Al, Cd, Mo, e Pb. Para estes quatro metais foi estudado o desempenho de cinco modificadores químicos permanentes: Ir, Pd, Rh, W e Zr. Alternativamente foi efetuado um teste tendo o Mo como modificador químico na determinação de Al. Nestes experimentos foi empregado o planejamento fatorial para estudar o comportamento das temperaturas de pirólise e atomização e efetuar um número reduzido de experimentos. Na avaliação dos modificadores estudados foi utilizada a PCA juntamente com os dados experimentais. Primeiramente, será mostrada uma revisão bibliográfica, onde foram abordados temas importantes relacionados com espectrometria atômica: (1) o desenvolvimento da ETAAS, (2) emprego de modificadores químicos convencionais e permanentes e (3) utilização de planejamento fatorial para otimização das condições de operação na ETAAS.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ESPECTROMETRIA ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA

A ETAAS é uma técnica amplamente utilizada na determinação de elementos em níveis de  $\mu\text{g/L}$ . Considerando sua inerente alta sensibilidade e seletividade, podem ser determinados cerca de 70 elementos, em amostras de origens as mais diversas [1].

Em 1991 L'vov [2] propôs uma divisão na evolução da ETAAS, onde a mesma seria composta por quatro fases distintas: nascimento e infância (1956 – 1965), realização comercial (1966 – 1975), estagnação e renovação (1976 – 1984) e estabelecimento da técnica (1985 – 1990). Ainda, segundo L'vov, o período compreendido entre 1956 – 1965 foi o responsável pelo surgimento das lâmpadas EDL, uso de grafite pirolítico para o recobrimento dos tubos de grafite e o desenvolvimento do corretor de deutério.

Com o desenvolvimento tecnológico da década de oitenta, surgiram acessórios e modificações que tornaram a ETAAS uma técnica extremamente atraente e competitiva. Essas modificações referem-se à automação do processo de introdução da amostra no forno de grafite; controle da instrumentação com recursos eletrônicos modernos, possibilitando um aquecimento ultra-rápido ( $1500^{\circ}\text{C/s}$ ); correção de fundo com o corretor Zeeman; melhoramento dos tubos de grafite, permitindo uma maior vida útil dos mesmos e sensibilidade das medidas, desenvolvimentos sintetizados nas condições STPF, que resultaram especialmente em uma redução significativa no efeito de matriz [3]. O Quadro 1 mostra os anos de surgimento e realização das principais propostas que integram as condições STPF. Deve-se salientar também que, atualmente, são empregados na ETAAS, detectores configurados com arranjo de diodos, propostos inicialmente para ICP OES [4].

Quadro 1: Histórico do desenvolvimento das condições STPF [2].

Descrição da inovação	Ano	
	Proposta	Realização
Eletrônica rápida	-	1978
Tubos recobertos com grafite pirolítico	1963	1978
Corretor de deutério	1965	1968
Absorbância integrada	1968	1976
Auto-amostrador	1972	1975
Aquecimento rápido	1974	1976
Modificadores químicos	1975	1975
Corretor Zeeman	1975	1981
Plataforma integrada	1977	1978

## 2.2. MODIFICADORES QUÍMICOS

O emprego de modificadores químicos é uma prática comum em determinações por ETAAS. A sua principal função é diminuir, ou até mesmo eliminar, interferências provocadas pela matriz ou concomitantes presentes na amostra, por meio do aumento da eficiência da etapa de pirólise. O principal objetivo da utilização dos modificadores químicos é permitir altas temperaturas de pirólise. Com uma temperatura de pirólise elevada, é viável a eliminação dos concomitantes, sem com isso afetar a atomização do analito de interesse. Assim, o analito é transformado em uma espécie termoestável [5].

O conceito de modificador químico foi introduzido por Ediger em 1975 [6]. Neste trabalho pioneiro, Ediger propôs a adição de Ni para diminuir a volatilidade do As e do Se, e a adição de fosfato de amônia para estabilizar o Cd. Ediger também propôs a adição de nitrato de amônia em amostras de água do mar para remover o cloreto de sódio em baixas temperaturas de pirólise. As principais características desejáveis destes reagentes estão listadas a seguir [5,7]:

- O analito de interesse deve ser estabilizado até uma temperatura de pirólise relativamente alta (aproximadamente 1000°C). Esta propriedade permite a volatilização ou total eliminação dos concomitantes;
- O modificador deve ser aplicável a um grande número de analitos, contribuindo para maior simplicidade e dinamismo nas determinações;
- O modificador deve ser encontrado em uma forma altamente pura, e não deve conter concentrações mensuráveis do analito de interesse;
- Em muitos casos é desejável que a espécie seja refratária e/ou forme compostos refratários;
- Preferencialmente, o modificador não deve reduzir a vida útil do forno de grafite;
- O modificador não deve produzir uma excessiva atenuação de fundo, próximo ao comprimento de onda do elemento de interesse.

Atualmente, são encontrados na literatura diversos modificadores químicos (aproximadamente 50), e dezenas de combinações, que chegam a superar 150. Entre os modificadores mais comumente utilizados estão: Ce, Ce + KI, Sc, Y, La, V, V + Pd, V + PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, Mo, W, W + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Mo + Pd, W + Pd, Ru, Rh, Rh + W, Mg e Pd [8,9]. Entretanto, o Pd é o mais difundido como modificador químico, sendo considerado por vários grupos de pesquisa como um modificador universal [10]. O Pd como modificador foi proposto inicialmente em 1981 para a determinação de Te [11] e Bi [12] em águas de esgoto, água do mar e urina. O Pd não é comumente determinado, pode ser obtido com um alto grau de pureza, não reduz a vida útil do tubo de grafite e não produz uma excessiva atenuação do fundo [5]. O emprego de modificadores químicos a base deste elemento foi rapidamente difundido e, entre os anos 1986 e 1989 cerca de 80 a 100 publicações/ano reportaram estudos sobre o Pd [8,9].

As características do emprego de modificadores químicos são bem estabelecidas [13]:

- Modificadores químicos são geralmente utilizados em concentração maior que a do analito;
- Os modificadores químicos empregados são compostos que formam espécies refratárias (óxidos, carbetos, metais, entre outros) no forno de grafite;
- A estabilidade térmica depende da concentração do modificador;
- Em vários casos, modificadores químicos causam mudanças na forma e no tempo de aparecimento dos sinais de absorbância. Usualmente, os modificadores aumentam este tempo;
- Frequentemente, quando são feitas algumas comparações entre modificadores, observa-se que aqueles que possuem massa atômica menor são mais eficientes na estabilização térmica de elementos voláteis.

### 2.3. MODIFICADORES QUÍMICOS PERMANENTES

O uso de modificadores químicos em ETAAS é normalmente feito de duas maneiras. Na primeira, é introduzida no forno de grafite uma alíquota da solução amostra já contendo o modificador. Na segunda, o modificador pode ser introduzido no forno de grafite, uma etapa de aquecimento é executada e, em seguida, introduz-se a amostra. Os procedimentos descritos anteriormente são repetidos para cada ciclo de aquecimento, e algumas vantagens e limitações são observadas. Na primeira maneira é requerida uma alta pureza do modificador, para se evitar elevados valores de branco. Na segunda, o modificador é reduzido na superfície do atomizador, eliminando impurezas que podem estar presentes, e contribuindo para uma melhor estabilização do analito de interesse [14]. Estes procedimentos requerem um elevado tempo para a sua execução durante a determinação. Quando muitas amostras devem ser analisadas, estes procedimentos podem se tornar inviáveis [15].

Em 1973, Kuzovlev *et al.* [16] recobriram um forno de grafite com um filme de um metal com alto ponto de fusão, para a determinação de elementos refratários.

Este foi, provavelmente, um dos trabalhos pioneiros utilizando modificadores permanentes. Os metais mais utilizados no recobrimento, e encontrados na literatura, são o Pd, Rh, Ru, Pt, Ir, W, Zr, Nb e Ta, podendo ser empregados individualmente ou combinados [15].

A modificação da superfície de um atomizador de grafite apresenta muitas vantagens, quer pelo aumento do tempo de vida útil, quer pela estabilidade operacional dos tubos atomizadores. Estes pontos positivos maximizam a sensibilidade na determinação de muitos elementos. Além disso, há a melhora da precisão dos dados obtidos, e eliminação das impurezas voláteis presentes nos modificadores [17]. O procedimento de modificação da superfície atomizadora também é justificado devido, tanto ao impedimento da atomização de alguns metais diretamente a partir da superfície gráfitica, quanto para reações e interações com o carbono que dificultam a atomização de outros. São descritas na literatura várias tentativas para reduzir as interações entre o carbono e o analito, para a proteção da superfície de atomização [18]:

- Revestimento da superfície gráfitica por impregnação com soluções de metais formadores de carbetos quimicamente e termicamente estáveis;
- Introdução de metais refratários no tubo de grafite, na forma de lâminas, copos, "barquinhas" e tubos;
- Substituição do tubo de grafite por um tubo de metal de alto ponto de fusão.

Em um trabalho proposto por Zátka [19], foi recoberta uma plataforma de grafite com Ta, deixando-a imersa em uma solução 6% m/v do metal. Segundo o autor, foi essencial que a solução do metal a ser impregnado estivesse livre de ácidos minerais fortes. Esta imposição relacionou-se ao aumento da vida útil do forno de grafite, e à diminuição de problemas com a repetibilidade nas determinações. O processo de impregnação foi efetuado a uma pressão reduzida, para aumentar a velocidade de impregnação do metal. O autor mostrou que, com uma temperatura de atomização da ordem de 2700°C, foi possível realizar de 350 a 400 ciclos de aquecimento sem perda da qualidade analítica.

Fritzsche *et al.* [20], trataram a superfície gráfitica com W, Zr, Ta ou Mo, para determinar Sn, evitando a interação do analito com a superfície gráfitica. Volynsky e

Sedykh [17] e Michaelis *et al.* [18], impregnaram tubos de grafite com La e Ta, respectivamente, obtendo uma vida útil maior quando comparado com o tubo sem tratamento. Em outro trabalho, Luguera *et al.* [21] impregnaram uma plataforma com Zr, Ta ou V, para a determinação de B, os tubos apresentaram bons resultados até 200 ciclos de aquecimento com uma temperatura de atomização de 2650°C por 3 segundos.

Em 1992 Iwamoto *et al.* [22] propuseram a utilização de um programa de aquecimento para o tratamento de um forno de grafite com W, para posterior determinação de Sn. No processo de tratamento, eram adicionados 100 µL de uma solução de tungstato de sódio (0,01 mol/L) no forno de grafite, e o programa de aquecimento era executado; esse processo foi efetuado por 5 vezes. Os sinais obtidos com o forno de grafite tratado com W mantiveram-se estáveis por 100 ciclos de aquecimento.

Shuttler *et al.* [23] utilizaram pela primeira vez o termo "modificador permanente", e empregaram um forno de grafite tratado com Pd e Ir para a determinação de As, Se e Bi por geração de hidretos. O forno manteve-se estável por 260 ciclos de aquecimento. Ainda, segundo os autores, o número de ciclos de aquecimento do forno de grafite depende da temperatura de fusão do metal modificador, e do programa de temperatura empregado.

Lima *et al.* [15], empregaram atomizadores revestidos com Rh, e uma mistura de W e Rh, na determinação de Cd, Pb e Se. Com o atomizador modificado foi possível realizar de 300 a 350 ciclos de aquecimento sem perda da qualidade do sinal analítico. O tempo de recobrimento das plataformas foi de 45 min, e a temperatura de limpeza durante as determinações não excedeu a 2200°C quando foi empregado o Rh, e a 2400°C quando foi utilizada a mistura W/Rh. Em outro trabalho, Lima *et al.* [24], determinaram Cd em suspensões de peixe, tendo como modificador permanente uma mistura de 250 µg de W e 200 µg de Rh. Os resultados mantiveram-se estáveis por até 300 ciclos de aquecimento e o modificador permanente mostrou-se mais eficiente que a modificação convencional com Pd e nitrato de magnésio.

O Quadro 2 mostra algumas aplicações recentes de modificadores químicos permanentes.

Quadro 2: Aplicações de modificadores químicos permanentes em ETAAS.

<b>Matriz(es)</b>	<b>Analito(s)</b>	<b>Características Principais</b>	<b>Ref.</b>
Solução aquosa	Cd, Mn, Pb, Se e V	Forno de grafite tratado com Ir, permitindo 700 ciclos de aquecimento	[25]
Solução aquosa	Sb, As, Bi, Cd, Pb, Te, Tl, Sn e Se	Foram depositados 2 µg de Ir em plataformas tratadas com Zr ou W.	[26]
Solução aquosa	As, Se e Si	Plataformas tratadas com Pd ou Rh por meio de processo eletrolítico. Após tratamento foi possível a execução de 80, 160 e 100 ciclos de aquecimento para o As, Se e Si, respectivamente.	[27]
Solução aquosa	Cr	Plataformas tratadas com Zr ou W.	[28]
Amostras biológicas	Si	Plataformas tratadas com uma mistura de Pd e Rh para evitar a formação de óxidos e carbetos de Si.	[29]
Água, sedimento e plantas	As, Sb, Se <sup>4+</sup> , Pb e Sn	Plataformas tratadas com 110 µg de Zr, ou 240 µg de W e 2 µg Ir.	[30]
Solução aquosa	Sb, As, Bi e Sn	Plataformas tratadas com 110 µg de Zr e 2 µg de Ir. Foram otimizadas as concentrações da L-cisteína, NaBH <sub>4</sub> e HCl	[31]
Sangue	Cd, Pb e Se	Plataformas tratadas com Ir.	[32]
Água	Pb	Plataformas tratadas com Hf, ou Nb, ou W, ou Zr.	[33]
Material biológico e sedimentos	Pb	Plataformas tratadas com 250 µg W e 200 µg Rh, sendo possível a realização de até 350 ciclos de aquecimento.	[34]
Sedimentos	Ag, Pb e Sn	Plataforma modificada com Ru, onde os resultados foram superiores quando comparados com Pd ou Pd mais Mg.	[35]
Emulsões de óleos e naftas	Ni e V	Plataforma modificada com Ir sendo alcançado 400 ciclos de aquecimento	[36]
Sedimento e tecido de ostra	Sn	A m <sub>0</sub> obtida foi de 38 pg quando utilizados Zr e Ir como modificadores químicos permanentes	[37]
Solos, carvão, águas naturais e sedimentos	As, Cd e Pb	Foram utilizados quatro modificadores químicos permanentes: W, Rh, Ir e Ru.	[38]
Sedimento marinho e tecido biológico	Cd e Pb	Emprego de Ir como modificador químico permanente. Os limites de detecção para o Cd e Pb foram de 4,0 ng/g e 3,8 ng/g, respectivamente.	[39]

## 2.4. EMPREGO DE PLANEJAMENTO FATORIAL EM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA

A utilização de ferramentas quimiométricas em química analítica, ou em outras áreas da química vem se tornando uma atividade essencial, devido, principalmente à quantidade de informações geradas [40, 41] e à necessidade de processos de otimização mais rápidos e que considerem a interação entre os fatores [42]. Em

algumas revisões encontradas na literatura foi observado um contínuo aumento no número de publicações que envolvem ETAAS e quimiometria [43-49].

A principal finalidade da utilização do planejamento fatorial é estudar a influência ou efeito de determinada variável, e interações entre variáveis, em um sistema específico [50-52]. Desta forma, são executados diversos experimentos em ordem aleatória e, no final, são efetuadas operações matemáticas muito simples para o cálculo dos efeitos.

O emprego de planejamento fatorial em ETAAS concentra-se, principalmente, no estudo dos principais efeitos de concomitantes na determinação de um analito de interesse, sendo possível não apenas o cálculo do efeito de um concomitante em especial, mas os efeitos de possíveis interações entre os mesmos. Em experimentos univariados, onde cada concomitante é estudado em separado, é praticamente impossível inferir algo sobre as possíveis interações entre dois ou três concomitantes [53].

Legret e Divet [54] empregaram um planejamento fatorial  $2^5$  (32 experimentos – 2 níveis e 5 variáveis) para averiguar a interferência de Al, Ca, Fe, Mg e Na (variáveis) na determinação de Pb por ETAAS. Na execução dos experimentos foram adotados dois níveis: -1 (concentrações dos concomitantes iguais a 0) e +1 (concentrações iguais a 800, 800, 400, 200 e 200 mg/L para Al, Ca, Fe, Mg e Na, respectivamente).

Em cada experimento foi determinada uma concentração conhecida de Pb. O cálculo dos efeitos foi feito determinando-se a diferença das médias das respostas para uma variável, segundo a equação:

$$b_j = \overline{(y_j +)} - \overline{(y_j -)}$$

onde  $b_j$  é o efeito para a variável  $j$  (concomitantes),  $\overline{(y_j +)}$  é a média das respostas obtidas para os níveis +1 da variável  $j$ , e  $\overline{(y_j -)}$  é a média das respostas obtidas para os níveis -1 da variável  $j$ . Após a execução dos experimentos e cálculo dos efeitos, o concomitante de maior efeito foi o Al com -23%, ou seja, quando o Pb foi determinado na presença de 800 mg/L de Al o sinal analítico caiu 23%. O efeito da interação entre os concomitantes Al e Ca foi de 4%.

Uma outra ferramenta de grande relevância na química analítica, porém pouco explorada em ETAAS, é o uso de técnicas derivativas [50-52]. Nas técnicas derivativas, utilizando um planejamento fatorial, é obtida uma equação de segundo grau. Esta equação, após ser derivada, fornece o máximo ou o mínimo de determinada otimização. Descrevendo ainda o trabalho de Legret e Divet [54], os mesmos empregaram um planejamento fatorial clássico denominado "2<sup>2</sup> + ponto central + estrela" [50-52], para a otimização da temperatura de pirólise e a quantidade do modificador químico (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) na determinação de Pb. A Figura 1 mostra a configuração dos experimentos.

Neste tipo de planejamento foram efetuadas réplicas no ponto central (variáveis normalizadas em 0) para o cálculo dos erros, a equação de segundo grau gerada foi:

$$y = 227,8 - 22,2P + 8,2M - 9,9P^2 - 4,7M^2 + 0,5PM$$

onde  $y$  é a resposta (absorbância), e  $P$  e  $M$  são a temperatura de pirólise e quantidade do modificador, respectivamente. Ao se derivar a equação anterior, temos que a temperatura de pirólise e quantidade de modificador que apresentou a maior absorbância foi 700°C e 200 µg, respectivamente.

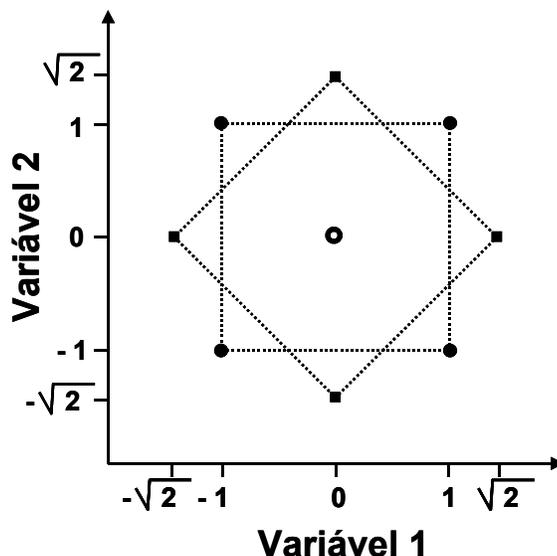


Figura 1: Configuração de um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> + ponto central + estrela, onde o círculo central representa o experimento no ponto central (variáveis normalizadas em zero), o quadrado com círculos nas arestas representa o fatorial 2<sup>2</sup> (variáveis normalizadas em -1 e +1), e o losango com pequenos quadrados nas arestas representa o fatorial em estrela (variáveis normalizadas em  $-\sqrt{2}$  e  $+\sqrt{2}$ ).

## 2.5. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS - PCA

As maiores características da PCA consistem em extrair, de um determinado conjunto de dados, informações relevantes para o seu entendimento. Com a PCA, é efetuada uma simplificação, ou seja, uma redução da dimensão original dos dados, modelamento, detecção de amostras anômalas (*outliers*), seleção de variáveis importantes em determinado sistema, classificação e previsão [55].

Com a PCA, uma matriz de dados  $\mathbf{X}$  formada por N linhas, que podem ser amostras de alimentos, por exemplo, e M colunas, que podem representar as concentrações de macro e micronutrientes nestes alimentos, são decompostas em *scores* e *loadings*. Os *scores* são coordenadas das amostras em um novo sistema de eixos, e os mesmos são ortogonais entre si, ou seja, completamente não correlacionados [56,57]. Os *loadings* são os pesos ou influência das variáveis. A Figura 2 mostra a decomposição de uma matriz de dados  $\mathbf{X}$  em vetores de *scores* e *loadings*.

Ao se trabalhar com a PCA é necessário, em muitos casos, efetuar uma etapa de pré-processamento nos dados, que podem ser: (1) centrar na média ou (2) autoescalar. O primeiro tipo de pré-processamento consiste em calcular a média dos dados de determinada coluna (variável) e, em seguida, subtraí-la de cada dado da referida coluna. Assim, as médias das variáveis são igualadas a zero. No segundo tipo, são calculadas as médias e os desvios padrões, em seguida subtrai-se cada valor da média, e divide-se o resultado pelo desvio padrão. Portanto, a média de cada variável será zero e o desvio padrão será igual a 1. A Figura 3 representa as operações descritas: em (a) temos 10 variáveis fictícias (retângulos) sem nenhum tipo de pré-processamento, em (b) temos as mesmas variáveis centradas na média (média igual a zero) e em (c) temos as variáveis auto-escaladas (praticamente do mesmo tamanho – desvio padrão igual a 1). O pré-processamento centrado na média é utilizado, principalmente, para dados de espectros, e o auto-escalado, é utilizado quando se quer dar o mesmo peso ou importância para todas as variáveis.

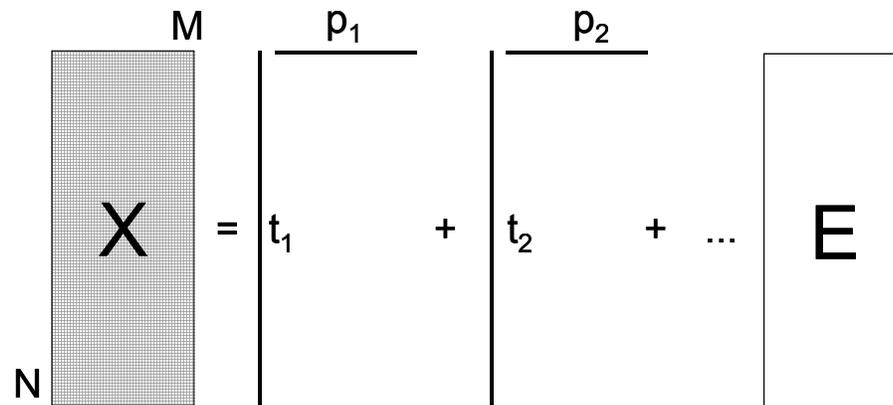


Figura 2: Decomposição da matriz de dados  $X$  ( $N$  linhas e  $M$  colunas) em vetores de *scores* ( $t_i$ ), *loadings* ( $p_i$ ) e uma matriz de erros  $E$ .

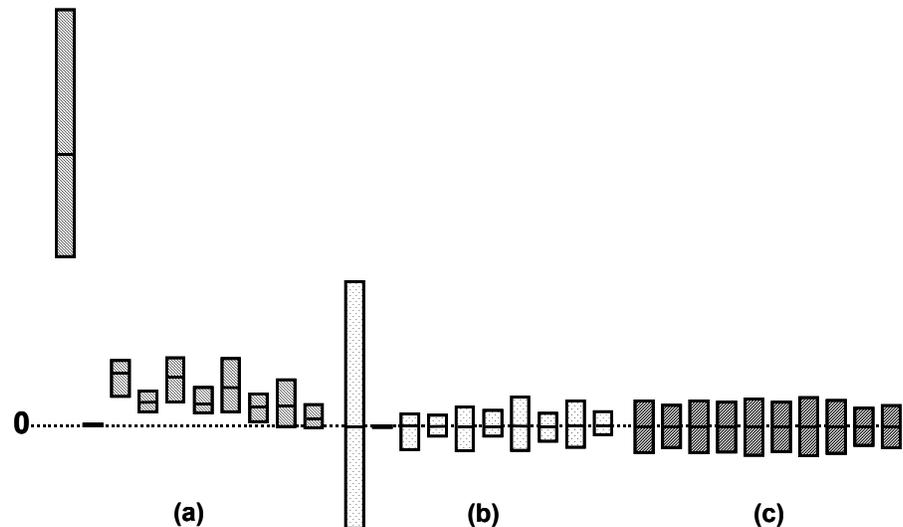


Figura 3: Representação do pré-processamento de 10 variáveis fictícias (retângulos). Em (a) temos as variáveis originais, em (b) as mesmas variáveis centradas na média (média igual a zero) e em (c) temos as variáveis auto-escaladas (média igual a zero e desvio padrão igual a 1).

Os gráficos de *scores* são formados por componentes principais (PC), que são ordenados em ordem crescente de variância. Por exemplo, a primeira componente principal (PC1) é aquela que contém o maior número de informações dos dados originais [55-57].

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. MATERIAL

Os seguintes equipamentos/programas computacionais foram utilizados no desenvolvimento deste primeiro capítulo:

- Espectrômetro de Absorção Atômica com Forno de Grafite, marca Perkin-Elmer, modelo AAnalyst 600, equipado com corretor Zeeman longitudinal, amostrador automático modelo AS-800, e sonda ultra-sônica modelo USS-800;
- Lâmpadas EDL para Cd (228,8 nm) e Pb (283,3 nm), marca Perkin-Elmer;
- Lâmpadas de cátodo oco para Al (309,3 nm) e Mo (313,3 nm), marca Perkin-Elmer;
- Balança analítica, marca Mettler, modelo AE 200;
- Deionizador de água marca Millipore, modelo Milli-Q plus;
- Destilador sub-ebulição marca Marconi, modelo MA 075;
- Na aplicação da PCA foi empregado o programa MATLAB versão 6.1 (The MathWorks). As rotinas da PCA foram aplicadas a partir do “PLS Toolbox”, versão 2.0 (Eigenvector Technologies).
- Vidrarias e outros materiais, comuns a um laboratório analítico.

#### 3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes listados foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho, e possuem grau analítico.

- Cloreto de cádmio monohidratado ( $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Marca Merck.
- Nitrato de chumbo (II) [ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ]. Marca Ecibra;
- Óxido de molibdênio ( $\text{MoO}_3$ ). Marca Vetec;
- Nitrato de alumínio nonahidratado [ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ]. Marca Ecibra;
- Solução estoque de nitrato de paládio (II) [ $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ] 10 % (m/v) em uma solução de  $\text{HNO}_3$  15 % (v/v). Marca Merck;
- Nitrato de magnésio hexahidratado [ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ]. Marca Merck;
- Tungstato de sódio dihidratado ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Marca Merck;
- Dihidrogeno fosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ). Marca Ecibra.
- Cloreto de ródio (III) ( $\text{RhCl}_3$ ). Marca Sigma;
- Cloreto de irídio trihidratado ( $\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ). Marca Acros;
- Nitrato de zircônio (IV) hidratado [ $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ]. Marca Acros. Porcentagem de Zr igual a 99,5%;

Todas as soluções foram preparadas, completando-se o volume com água destilada/deionizada e acondicionadas em frascos de polietileno:

- Solução padrão de Cd, 1000 mg/L. Preparada dissolvendo-se 0,9055 g de  $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  em 500 mL de água;
- Solução intermediária de Cd, 1000  $\mu\text{g/L}$ . Preparada diluindo-se 25  $\mu\text{L}$  da solução padrão (estoque) em 25 mL de  $\text{HNO}_3$  0,2% (v/v);

- Solução padrão de Cd 2 µg/L. Preparada diluindo-se 50 µL da solução intermediária em 25 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v);
- Solução padrão de Pb, 1000 mg/L, preparada dissolvendo-se 0,7993 g de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em 500 mL de água;
- Solução intermediária de Pb 10 mg/L, preparada diluindo-se 250 µL da solução estoque em 25 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2 % (v/v);
- Solução padrão de Pb 50 µg/L, preparada diluindo-se 125 µL da solução intermediária em 25 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2 % (v/v);
- Solução padrão de Mo 1000 mg/L. Preparada dissolvendo-se 0,1500 g de MoO<sub>3</sub> em, aproximadamente, 40 mL de HCl 1:1. O volume final foi ajustado para 100 mL. Esta solução foi empregada nos testes onde o Mo foi o analito, e nos testes tendo o Mo como modificador químico permanente;
- Solução intermediária de Mo 1000 µg/L. Preparada diluindo-se 25 µL da solução padrão (estoque) em 25 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v);
- Solução padrão de Mo 20 µg/L. Preparada diluindo-se 200 µL da solução intermediária em 10 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v);
- Solução padrão estoque de Al 1000 mg/L. Preparada dissolvendo-se 6,9492 g de Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> . 9H<sub>2</sub>O em aproximadamente 200 mL de água e 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado. O volume final foi ajustado para 500 mL;
- Solução intermediária de Al 1000 µg/L. Preparada diluindo-se 50 µL da solução padrão estoque em 50 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v);
- Solução padrão de Al 30 µg/L. Preparada diluindo-se 300 µL da solução intermédia em 10 mL de HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v);
- Solução de NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 % (m/v), preparada dissolvendo-se 0,125 g em 25 mL de água;
- Solução de HNO<sub>3</sub> 0,2 % (v/v), preparada diluindo-se 2 mL do ácido concentrado em 1000 mL de água;
- Solução estoque de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 3 % (m/v), preparada dissolvendo-se 2,5916 g em 50 mL de água;
- Solução de trabalho de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 0,03 % (m/v), preparada diluindo-se 100 µL da solução estoque em 10 mL de água;
- Solução de trabalho de Pd<sup>2+</sup> 0,05% (m/v), preparada diluindo-se 0,5 mL da solução estoque em 10 mL de água;
- Solução de Pd<sup>2+</sup> 1 g/L, preparada diluindo-se 1 mL da solução estoque em 10 mL de água;
- Solução de W<sup>6+</sup> 1 g/L, preparada dissolvendo-se 0,0897 g de Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O em 50 mL de água.
- Solução de Zr<sup>4+</sup> 1 g/L, preparada dissolvendo-se 0,1267 g de ZrO(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> . xH<sub>2</sub>O em 50 mL de água;
- Solução de Rh<sup>3+</sup> 1 g/L, preparada dissolvendo-se 0,0596 g em 25 mL;
- Solução de Ir<sup>3+</sup> 1 g/L, preparada dissolvendo-se 0,1731 g de IrCl<sub>3</sub> . 3H<sub>2</sub>O em 50 mL de água;

### 3.3. OTIMIZAÇÃO DAS TEMPERATURAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE Cd, Pb, Mo E Al

Nesta primeira etapa foi utilizado planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização na determinação de Cd, Pb, Mo e Al. Antes da execução dos testes com modificadores químicos permanentes, foram avaliados alguns experimentos com as condições recomendadas pelo fabricante [58]. Nos testes efetuados foram utilizadas soluções padrões de Cd, Pb, Mo e Al de concentrações iguais a 2, 50, 20 e 30 µg/L, respectivamente.

A Tabela 1 mostra as condições recomendadas para a determinação dos metais citados. No caso do Mo, além dos testes com Pd + Mg, foram executados alguns experimentos empregando-se apenas o Mg (0,015 mg).

Tabela 1: Condições recomendadas, bem como massas características obtidas nestas condições, para a determinação de Cd, Pb, Mo e Al.

Metal	Pirólise (°C)	Atomização (°C)	m <sub>o</sub> (pg)	Modificador químico
Cd	500	1500	1,3	0,005 mg de Pd + 0,003 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0,05 mg de NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 0,003 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Pb	850	1600	30	0,005 mg de Pd + 0,003 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	1000	1900	50	0,05 mg de NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 0,003 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Mo	1500	2400	12	0,005 mg de Pd + 0,003 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Al	1200	2300	31	0,015 mg de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

### 3.4. TRATAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV

O programa para tratamento das plataformas foi adaptado dos trabalhos de Lima *et al.* [15] e Iwamoto *et al.* [22], e é mostrado na Tabela 2.

Tabela 2: Programa para tratamento das plataformas de L'vov.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL/min)
1	120	5	25	250
2	150	15	10	250
3	1000	20	10	250
4	2000	1	1	250

Na primeira etapa, 50 µL de uma solução 1 g/L do modificador químico permanente eram introduzidos na plataforma, e iniciado o programa de aquecimento. O tratamento foi repetido por cinco vezes, com o emprego total de 250 µg. Algumas plataformas foram tratadas com dois modificadores: Zr e Rh ou Zr e W. Neste caso, inicialmente, a plataforma foi tratada com 250 µg de Zr e, depois, com 250 µg de Rh ou W.

Deve-se frisar aqui que é comum encontrar-se na literatura o emprego de combinações entre modificadores que formam, preferencialmente, carbetos (W e Zr) e óxidos (Rh) [59-62]. No tratamento proposto, foram combinados modificadores formadores de carbetos e óxidos (Zr e Rh) e modificadores que formam carbetos (Zr e W).

### 3.5. EXPERIMENTOS EXECUTADOS NA OTIMIZAÇÃO POR PLANEJAMENTO FATORIAL

Na execução do planejamento fatorial é importante ressaltar que os experimentos foram executados de forma aleatória, para se evitar a introdução de erros sistemáticos. Além disso, com o uso do planejamento fatorial tentou-se efetuar um número menor de experimentos e chegar mais rapidamente a uma combinação de temperaturas (pirólise e atomização) para determinação dos metais. As temperaturas de pirólise e atomização para o Cd e o Pb empregadas na otimização, são mostradas na Tabela 3. Para estes dois metais, foi utilizado um planejamento  $2^2$  + ponto central (3 réplicas) + estrela.

Tabela 3: Planejamento fatorial usado para Pb e Cd.

Experimentos	Pb				Cd				
	Pirólise		Atomização		Pirólise		Atomização		
	(°C)	Nor.*	(°C)	Nor.*	(°C)	Nor.*	(°C)	Nor.*	
$2^2$	1	490	- 1	1150	-1	400	- 1	1400	-1
	2	910	+1	1150	-1	600	+1	1400	-1
	3	490	- 1	1850	+1	400	- 1	1600	+1
	4	910	+1	1850	+1	600	+1	1600	+1
ponto central	5	700	0	1500	0	500	0	1500	0
	6	700	0	1500	0	500	0	1500	0
	7	700	0	1500	0	500	0	1500	0
estrela	8	400	$-\sqrt{2}$	1500	0	360	$-\sqrt{2}$	1500	0
	9	1000	$+\sqrt{2}$	1500	0	640	$+\sqrt{2}$	1500	0
	10	700	0	1000	$-\sqrt{2}$	500	0	1360	$-\sqrt{2}$
	11	700	0	2000	$+\sqrt{2}$	500	0	1640	$+\sqrt{2}$

\* Dados normalizados

No caso do Mo e do Al foi empregado um planejamento fatorial  $2^2$  mais ponto central (7 experimentos). As temperaturas para estes metais eram muito altas, e a utilização do fatorial em estrela iria ultrapassar o limite de temperatura do equipamento (2600°C) [58]. Os experimentos para o Mo e Al são descritos na Tabela 4. Na determinação do Mo foi testada a presença de modificadores químicos permanentes, pois poderiam ser encontrados alguns problemas de atomização na determinação deste metal em suspensões.

Os programas de aquecimento com as demais etapas (secagem e limpeza) são mostrados na Tabela 5.

Tabela 4: Planejamento fatorial usado para Mo e Al.

Experimentos	Mo				Al				
	Pirólise		Atomização		Pirólise		Atomização		
	(°C)	Nor*	(°C)	Nor*	(°C)	Nor*	(°C)	Nor*	
2 <sup>2</sup>	1	1400	-1	2350	-1	1100	-1	2200	-1
	2	1600	+1	2350	-1	1300	+1	2200	-1
	3	1400	-1	2550	+1	1100	-1	2400	+1
	4	1600	+1	2550	+1	1300	+1	2400	+1
ponto central	5	1500	0	2450	0	1200	0	2300	0
	6	1500	0	2450	0	1200	0	2300	0
	7	1500	0	2450	0	1200	0	2300	0

\* Dados normalizados

Tabela 5: Programas de aquecimento empregados nos experimentos para o Cd, Pb, Mo e Al.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL/min)
1	110	5	**	250
2	130	15	***	250
3	ver Tabela 3 e 4	10	20	250
4	ver Tabela 3 e 4	0	****	0
5	*	1	*****	250

\* 2200°C para o Cd e Pb; 2550°C para o Mo e 2450°C para o Al.

\*\* 25 s para o Cd, Pb e Al e 30 s para o Mo.

\*\*\* 10 s para o Cd e Pb e 30 s para o Mo e Al.

\*\*\*\* 4 s para o Cd e Pb; 7 s para o Mo e 3 s para o Al.

\*\*\*\*\* 3 s para o Cd, Pb e Al e 5 s para o Mo.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. ESTUDOS PARA O Cd E Pb

Os resultados encontrados para as condições recomendadas para Cd e Pb são mostrados na Tabela 6, e foram efetuados, também, testes na ausência de modificadores químicos. Em todos estes testes foram utilizadas as temperaturas recomendadas pelo fabricante (ver Tabela 1).

Os valores obtidos para  $m_o$  mostraram se concordantes com o esperado no manual do usuário (ver Tabela 1) [58]. Nos testes com modificadores químicos permanentes o parâmetro comparativo utilizado foi a  $m_o$ . Este procedimento foi adotado para obter uma otimização mais rápida. Entretanto, outros fatores, tais

como, precisão, tempo de vida do forno atomizador e a sensibilidade serão abordados quando empregadas suspensões.

Tabela 6: Resultados obtidos na ausência de modificadores químicos e nas condições recomendadas

Modificador	$m_o$ (pg)	
	Cd	Pb
Ausência de modificador	17	76
Pd + $Mg(NO_3)_2$	1,4	45
$NH_4H_2PO_4$ + $Mg(NO_3)_2$	1,4	32

Para os modificadores químicos permanentes os testes iniciaram-se com o Pd, e as temperaturas de pirólise e atomização foram aquelas já mostradas na Tabela 3.

Nos estudos com o Cd, Pd, Zr, W e Zr+W apresentaram comportamentos similares como modificadores permanentes, relativamente às temperaturas de pirólise e atomização. As temperaturas de atomização não foram significativas, pois o erro calculado a partir do ponto central foi maior que o coeficiente para esta temperatura. A Figura 4 mostra as superfícies de resposta, os gráficos de contorno e as respectivas equações obtidas (pirólise representada pela letra P).

Para o Pd, a temperatura de pirólise que ofereceu uma razoável absorvância integrada foi igual a 360°C, e a mesma foi inferior à recomendada (500°C) [58]. Desta forma, o uso do Pd como modificador químico permanente na determinação de Cd não é recomendado.

Apenas a temperatura de pirólise foi significativa quando Zr, W e Zr + W foram empregados como modificadores permanentes (Figuras 4b-d). Ao se derivar e desnormalizar as equações, as temperaturas de pirólise obtidas foram de 470, 430 e 430°C para Zr, W e Zr + W, respectivamente. Observando-se as Figuras 4b-d, nota-se, principalmente com os gráficos de contorno, que é possível usar temperaturas de pirólise mais altas do que aquelas mencionadas anteriormente (variando de 400 a 550°C). Ao se empregar temperaturas de 500 e 1500°C para pirólise e atomização, respectivamente, as  $m_o$  obtidas foram de 1,4 pg para Zr e W (absorvância integrada de 0,13), e 1,5 pg para a mistura Zr + W (absorvância integrada de 0,11). Neste caso, as temperaturas foram maiores que para o Pd.

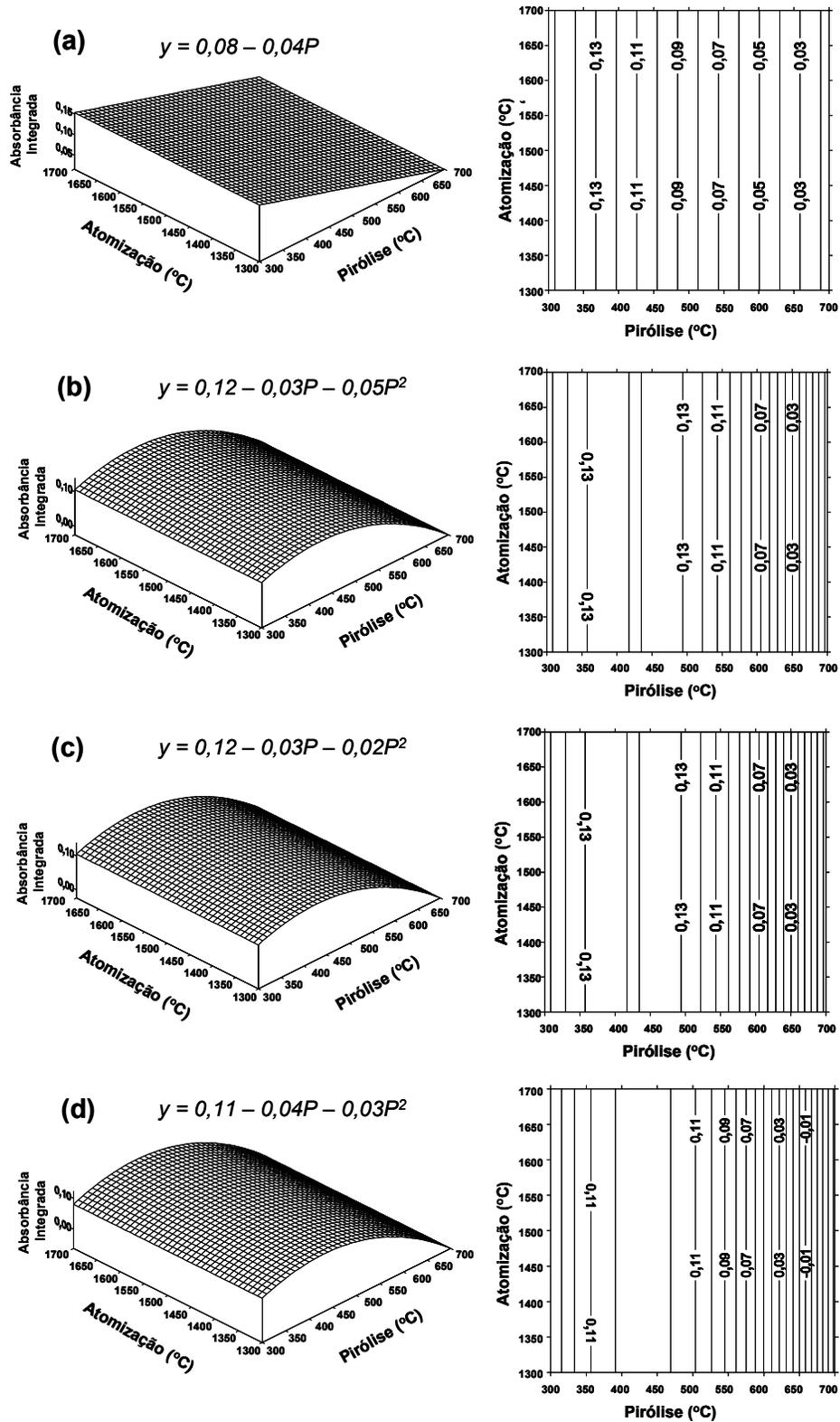


Figura 4: Superfícies de resposta, gráficos de contorno e equações obtidas na determinação de Cd com o emprego de Pd (a), Zr (b), W (c) e Zr + W (d) como modificadores químicos permanentes.

Para o Rh um comportamento interessante foi observado, como mostra a Figura 5. Tanto as temperaturas de pirólise como a atomização (representada pela letra A) foram significativas para o planejamento fatorial. Além disso, a partir da Figura 5, é possível notar que a temperatura de pirólise empregada poderia ser maior que a dos outros modificadores (aproximadamente 640°C). Entretanto, foi possível empregar temperaturas maiores do que essa e, mesmo assim, obter valores razoáveis para a absorvância integrada. Com as temperaturas fixadas em 640 e 1500°C para a pirólise e atomização, respectivamente, foi obtida uma absorvância integrada de 0,13 ( $m_o = 1,4$ ).

Tanto a superfície de resposta como o gráfico de contorno, não foram mostradas para o Ir, pois foi verificada uma repetibilidade muito deficiente (Absorvância integrada variando de 0,04 a 0,09) para o Cd. Com as temperaturas fixadas em 500 e 1500°C para a pirólise e atomização, respectivamente, foi obtida uma absorvância integrada de 0,08 ( $m_o = 2,2$ ).

Para o Pb, o primeiro modificador químico empregado foi o Pd, e a temperatura de atomização não foi significativa, ou seja, não ofereceu uma variação na absorvância integrada.

Ao se derivar e desnormalizar a equação ( $y = 0,14 - 0,06P - 0,04P^2$ ), temos que o ponto que apresentou maior absorvância integrada foi igual a 515°C. Este valor é bem menor que o recomendado pelo fabricante (850°C) [58]. Neste caso específico, foi possível concluir que o Pd, assim como no caso do Cd, não foi um bom modificador químico permanente na determinação de Pb.

Para o Zr, observou-se o mesmo comportamento que para o Pd. Entretanto, o mesmo estabilizou o Pb a uma temperatura maior, como é ilustrado na Figura 6. A temperatura máxima de pirólise obtida foi de 550°C, após a derivação e desnormalização da equação. Porém, observando-se o gráfico de contorno (Figura 6), é possível obter valores aceitáveis para a absorvância integrada entre 800 e 1000°C (de 0,13 a 0,08). Desta forma, ao se empregar temperaturas de pirólise e atomização de 910 e 1850°C, respectivamente, foi obtida uma  $m_o$  de 37 pg (absorvância integrada = 0,11). Neste sentido, estas temperaturas foram escolhidas quando foi usado o Zr como modificador químico permanente.

O Rh, W, e a mistura Zr+Rh, apresentaram um comportamento semelhante entre si, onde a temperatura de atomização apresentou coeficientes superiores ao erro experimental calculado; entretanto, a pirólise não se mostrou significativa.

A Figura 7 mostra as superfícies de resposta, gráficos de contorno e equações obtidos para o Rh, W e Zr + Rh.

Para o Rh, os termos quadráticos não foram significativos e nem a pirólise; entretanto, observando-se a Figura 7a, visualiza-se que as temperaturas de pirólise e atomização de 910 e 1850°C, respectivamente, produziram uma absorvância integrada de 0,09 ( $m_o$  de 42 pg).

Para o W (Figura 7b) e Zr + Rh (Figura 7c), após a execução da derivação e desnormalização das equações, as temperaturas de atomização encontradas foram iguais a 1370 para o W e 1340°C para a mistura Zr + Rh. Por outro lado, observando-se as Figuras 7b e 7c, é possível o emprego de temperaturas mais altas, variando entre 1800 e 2000°C, com absorvância integrada entre 0,10 a 0,14. Entretanto, para se evitar problemas relativos ao tempo de vida do recobrimento, as temperaturas de pirólise e atomização foram fixadas em 910 e 1850°C, respectivamente, com massas características iguais a 34 pg (para o W) e 36 pg (para a mistura Zr + Rh).

No caso específico para o Ir, os resultados obtidos para a absorvância integrada se mantiveram sempre entre 0,01 e 0,05, sendo que conclusões sobre esse modificador tornaram-se difíceis. Ao se empregar temperaturas de 910 e 1850°C para a pirólise e atomização, respectivamente, foi obtida uma absorvância integrada de 0,03 ( $m_o$  de 135 pg).

Quanto ao emprego da mistura Zr + W não houve variações significativas na absorvância integrada no intervalo de temperaturas escolhido. A superfície de resposta e o gráfico de contorno não foram mostrados neste caso. Além disso, um pequeno ganho em sensibilidade foi observado para os resultados, com a  $m_o$  variando de 33 a 36 pg para temperaturas de pirólise e atomização de 700 e 1500°C, respectivamente.

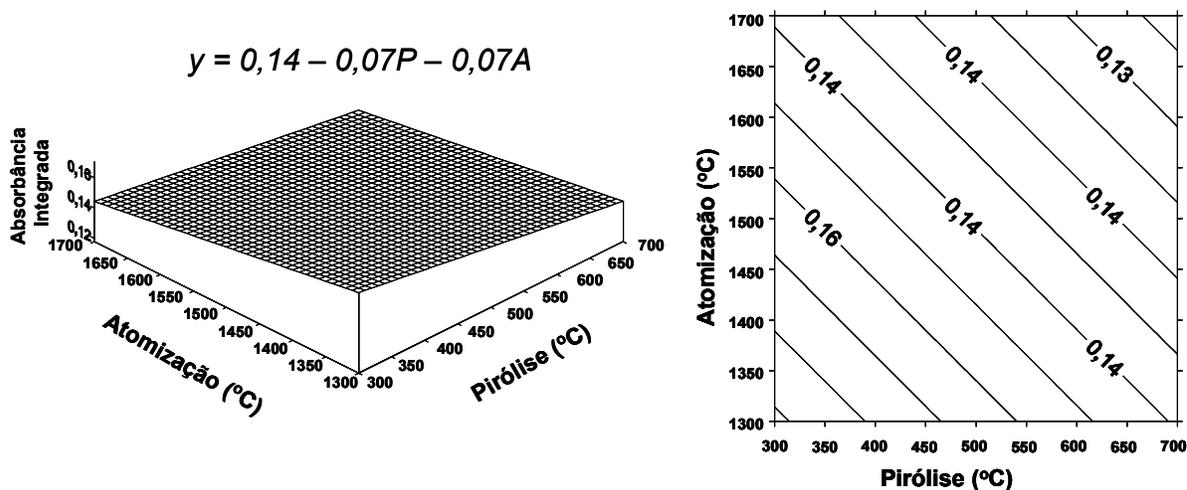


Figura 5: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equações obtidas na determinação de Cd com o emprego de Rh como modificador químico permanente.

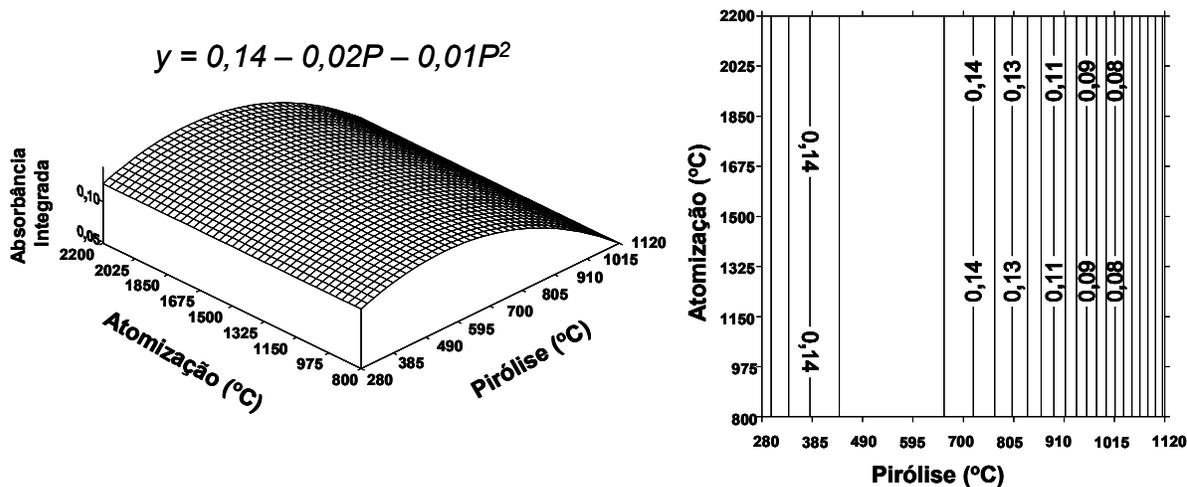


Figura 6: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equação obtidos na determinação de Pb com o emprego de Zr como modificador químico permanente.

Nesta parte do Capítulo procurou-se, por meio dos gráficos de contorno, maximizar as temperaturas de pirólise de tal forma que elas oferecessem uma  $m_0$  semelhante àquelas recomendadas pelo fabricante (ver Tabela 1). Desta forma, em muitos casos, as temperaturas utilizadas nas determinações não foram aquelas oferecidas pelo planejamento fatorial.

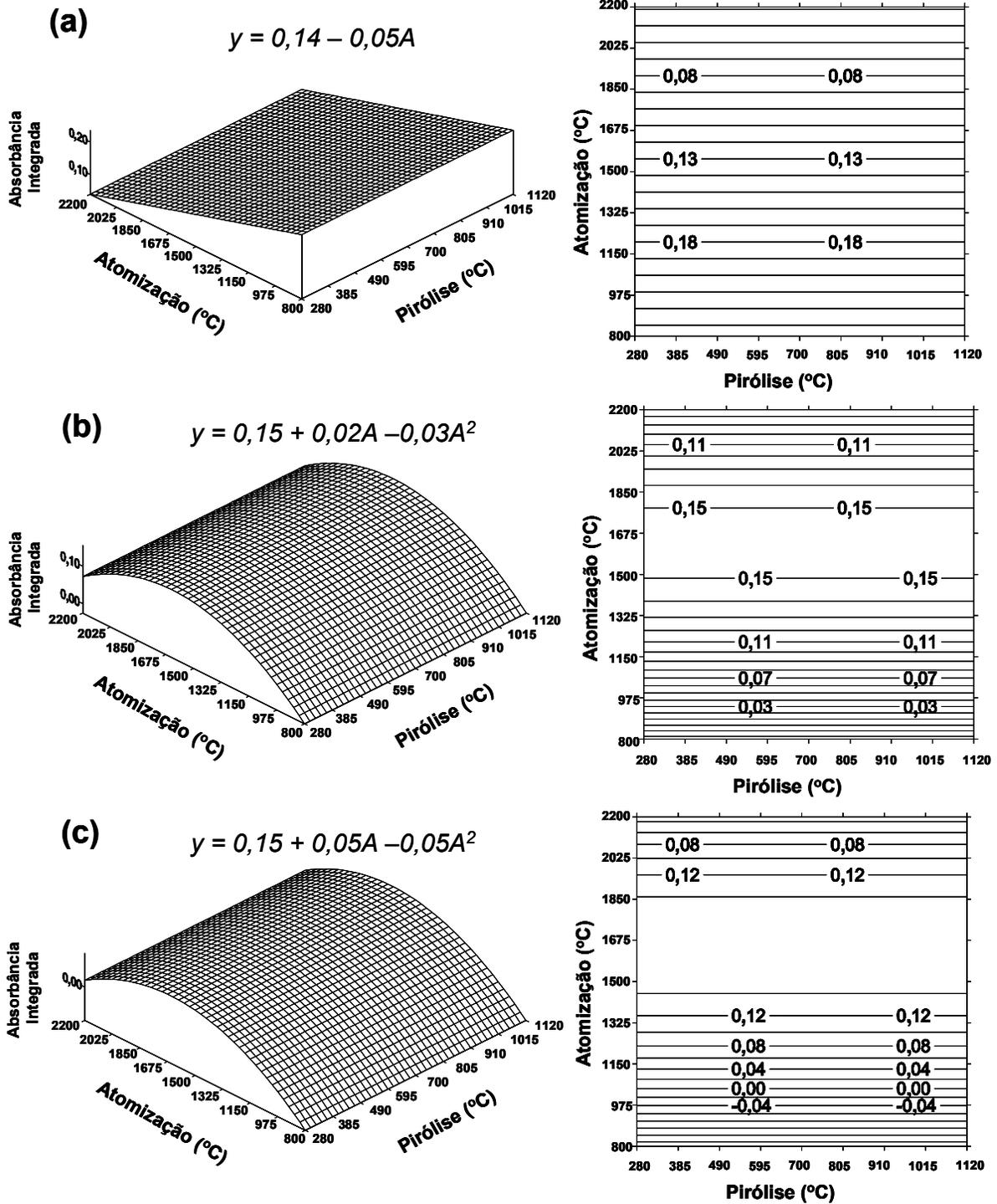


Figura 7: Superfícies de resposta, gráficos de contorno e equações obtidas na determinação de Pb com o emprego de Rh (a), W (b) e Zr + Rh (c) como modificadores químicos permanentes.

## 4.2. ESTUDOS PARA O Mo

Nos testes efetuados para o Mo com as condições recomendadas pelo fabricante (Tabela 1) alguns problemas foram encontrados, pois não foi alcançado o valor da  $m_o$  especificado [58]. O valor especificado era igual a 12 pg, enquanto que nos testes efetuados foi encontrada uma  $m_o$  de 30 pg. Tentou-se empregar, também, apenas o Mg (0,015 mg) como modificador químico convencional, porém, as respostas indicadas também não foram alcançadas. Desta forma, foi efetuado um planejamento fatorial inicial apenas com o emprego do Mg como modificador químico convencional.

A equação obtida foi igual a:

$$y = 0,0665 + 1,7375A$$

Como pode ser observada por meio da equação anterior, a temperatura de pirólise não foi significativa, sendo então fixada em 1400°C (ver Tabela 4). Entretanto, as condições para a  $m_o$  não foram alcançadas, e a temperatura de atomização já estava próxima ao limite do aparelho.

Temos que um aumento do sinal analítico estava condicionado ao aumento da temperatura de atomização. Este procedimento não foi adotado, para se evitar danos maiores à plataforma de L'vov, e as temperaturas de atomização e limpeza foram fixadas em 2500 e 2550°C, respectivamente.

Para os modificadores químicos permanentes, não foram efetuados planejamento fatorial, e as temperaturas de 1400 e 2500°C foram fixadas para a pirólise e atomização, respectivamente. O Mo na ausência de modificador químico, apresentou uma  $m_o$  de 22,9 pg, e com o Rh, igual a 31,5 pg. Para os demais modificadores, a absorvância integrada foi igual a 0,0007, -0,0001 e -0,0001 para W, Zr e Ir, respectivamente.

Os resultados da determinação de Mo com modificadores químicos permanentes, foram extremamente ruins, sendo difícil atribuir alguma tendência ou comportamento. O Pd não foi testado, pois os resultados obtidos para Cd e Pb não justificavam testes com este modificador. Além disso, nota-se que a determinação de Mo é possível na ausência de modificadores.

### 4.3. ESTUDOS PARA O Al

Como os testes para o Mo não apresentaram resultados satisfatórios, resolveu-se estudar outro metal que é termicamente estável, apresentando altas temperaturas de pirólise e atomização. O Al foi escolhido. Como ocorrido com o Mo, ao se empregar as condições recomendadas [58] (Tabela 1) a  $m_o$  estabelecida pelo fabricante não foi atingida (30 pg). Desta forma, também foi efetuado um planejamento fatorial (Tabela 4), utilizando o Mg como modificador químico convencional. A Tabela 7 mostra os resultados obtidos.

A equação calculada foi igual a:

$$y = 0,0798 + 0,0162A$$

Tabela 7: Resultados obtidos na otimização das temperaturas de pirólise e atomização para determinação de Al.

Experimento	Absorbância integrada	$m_o$ (pg)	Experimento	Absorbância integrada	$m_o$ (pg)
1	0,0542	48,7	5	0,0844	31,3
2	0,0665	39,7	6	0,0830	31,8
3	0,0931	28,4	7	0,0852	31,0
4	0,0924	28,6			

Como já comentado para o Mo, as temperaturas de atomização empregadas já estavam próximas ao limite do aparelho; entretanto, ao se observar a equação obtida para o Al, foi possível verificar que para se aumentar o sinal analítico seria necessário aumentar a temperatura de atomização. Esta afirmação pode ser confirmada com a Figura 8, onde são mostrados a superfície de resposta e o gráfico de contorno.

As temperaturas de pirólise e atomização foram fixadas em 1100 e 2400°C, e o desempenho dos modificadores químicos permanentes foi testado com estas temperaturas. Além dos modificadores químicos permanentes descritos no início do trabalho, resolveu-se empregar o Mo como modificador químico na determinação do Al. A Tabela 8 mostra os resultados obtidos.

Com os dados da Tabela 8, verifica-se que o Rh, Ir e Mo não apresentaram resultados satisfatórios. Por outro lado, o W, Zr e mistura Zr + W apresentaram resultados bons e comparáveis aos das condições recomendadas.

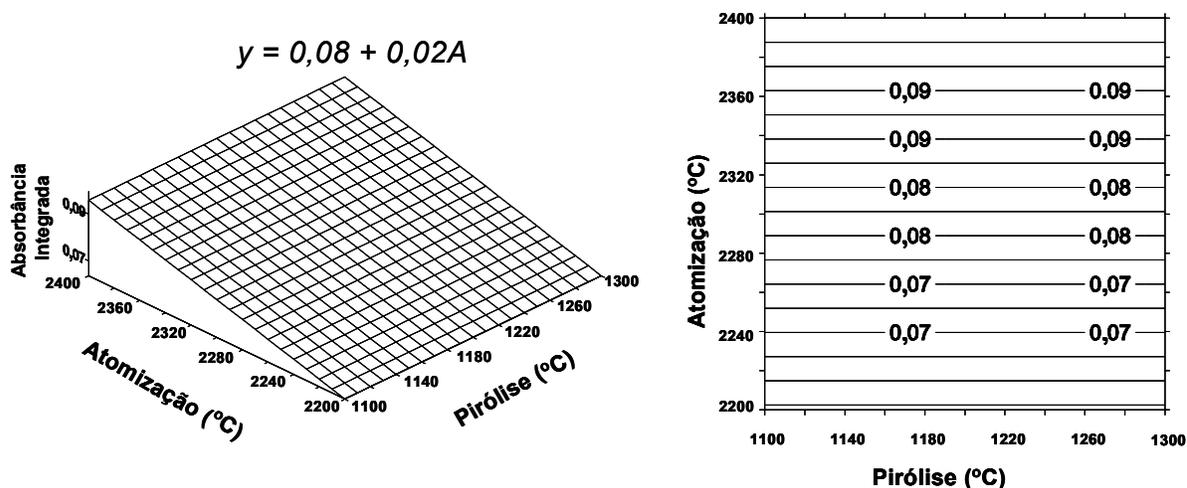


Figura 8: Superfície de resposta, gráfico de contorno e equação obtida na determinação de Al com o emprego de Mg como modificador químico convencional.

O Ir não apresentou resultados satisfatórios para nenhum metal estudado; este fato pode ser decorrente de diversos fatores, tais como, tipo de recobrimento efetuado, tipo de analito estudado e o sal empregado no preparo do modificador. Na literatura identifica-se uma tendência em se empregar o Ir como modificador químico permanente na determinação de metais geradores de hidretos. Esta afirmação pode ser confirmada com os trabalhos de Shuttler *et al.* [23] e Tsalev *et al.* [26].

Tabela 8: Resultados obtidos para determinação de Al na ausência e na presença de modificadores químicos permanentes.

Modificador	Absorbância integrada média	SD	RSD (%)	$m_o$ (pg)
Ausência de modificador	0,0700	0,0021	2,9	37,7
Rh	0,0107	0,0033	30	-
W	0,0867	0,0030	3,5	30,5
Ir	0,0015	0,0014	94	-
Zr	0,0973	0,0016	1,6	27,1
Mo	0,0478	0,0167	35	55,2
Zr + W	0,1001	0,0008	0,7	26,4

#### 4.4. CONSIDERAÇÕES SOBRE O EMPREGO DE PLANEJAMENTO FATORIAL EM ETAAS

Como já comentado no início do capítulo, com o emprego de planejamento fatorial é obtido um maior número de informações analíticas com um reduzido número de experimentos. Esta afirmação é ilustrada por meio da Figura 9. Esta figura representa alguns experimentos executados na otimização das temperaturas de pirólise e atomização para a determinação de Cd, tendo o Zr como modificador químico permanente. Os círculos sólidos representam o planejamento fatorial  $2^2$  + ponto central + estrela (ver Tabela 3), e os quadrados abertos representam os experimentos efetuados em um procedimento univariado. Esta figura mostra que com 11 experimentos, as temperaturas para determinação de Cd podem ser encontradas.

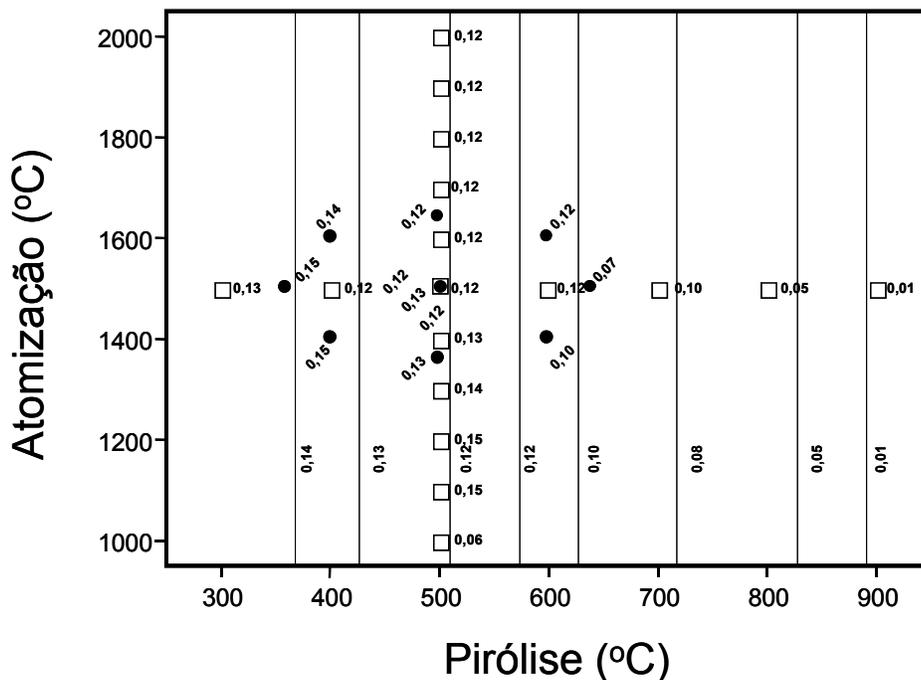


Figura 9: Otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Cd tendo Zr como modificador químico permanente. Os círculos sólidos representam os 11 experimentos fatoriais (Tabela 3). Os quadrados abertos representam 17 experimentos executados na forma univariada.

Além disso, é possível fazer um ajuste mais exato das temperaturas necessárias para efetuar a determinação de Cd, Pb e Al, permitindo, se necessário,

utilizar uma combinação específica de temperaturas para um tipo particular de amostra. Outro ponto de destaque, é que o emprego de planejamento fatorial permite uma rápida interpretação de dados relativos às temperaturas de pirólise e atomização, devido ao fato de que poucos experimentos são necessários, quando comparados com aqueles executados em um procedimento univariado. A execução de poucos experimentos contrasta com a regra observada na literatura onde são encontrados trabalhos que empregam de 17 a 25 experimentos para otimizar, por exemplo, a temperatura de pirólise [26, 28, 30].

Em um estudo futuro, com amostras mineralizadas ou até mesmo na forma de suspensões, poderiam ser usadas diferentes temperaturas para o mesmo analito. É possível aumentar, não somente a sensibilidade do método, mas, também, a seletividade. Isso porque podem ser escolhidas temperaturas de trabalho onde as respostas dos concomitantes sejam aceitáveis.

Para finalizar este primeiro capítulo, a Figura 10 mostra todos os resultados para  $m_0$  obtidos com os testes executados.

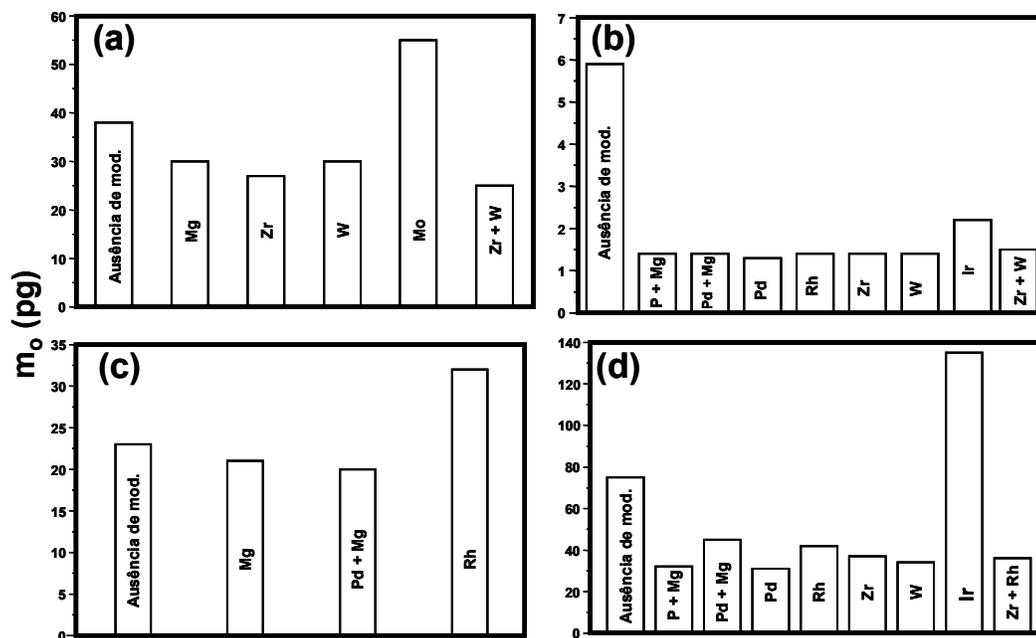


Figura 10: Massas características obtidas para Al (a), Cd (b), Mo (c) e Pb (d) em todos os experimentos com modificadores químicos convencionais e permanentes. A primeira coluna (sem modificador) corresponde a determinação do metal na ausência de modificador químico permanente ou convencional. As outras colunas, P + Mg, Pd + Mg e Mg correspondem à modificação convencional, e as demais colunas marcadas com Pd, Rh, Zr, W, Ir, Zr + Rh e Zr + W correspondem ao uso de modificadores químicos permanentes.

Os testes na ausência de modificadores foram feitos apenas para efeito de comparação e mostrar que, para as temperaturas utilizadas, é necessário o emprego de modificadores convencionais ou permanentes.

#### 4.5. ESCOLHA DO MODIFICADOR QUÍMICO PERMANENTE

Após a finalização dos estudos preliminares sobre o comportamento dos modificadores químicos permanentes temos que o Rh ofereceu resultados satisfatórios para o Cd e Pb (ver Figura 10). O W e o Zr apresentaram comportamentos interessantes para o Cd, Pb e Al. O Mo não apresentou resultados promissores com nenhum modificador e o mesmo não foi considerado no prosseguimento dos experimentos da Tese. A mistura entre W e Zr não ofereceu resultados superiores ao uso individual dos modificadores; assim, não houve nenhum efeito sinérgico entre estes modificadores. Como para o prosseguimento dos estudos, decidiu-se que deveria ser escolhido um único modificador que fosse capaz de ser utilizado para Al, Cd e Pb, as opções ficaram restritas ao W e o Zr.

A simples escolha de um modificador observando apenas a absorvância integrada obtida seria pouco criteriosa. Desta forma, tentou-se aplicar a PCA [55] com alguns parâmetros físico-químicos dos metais estudados. Este procedimento foi efetuado para tentar obter outros subsídios, que poderiam colaborar na escolha do modificador químico permanente. A Tabela 9 mostra as propriedades físico-químicas [63] empregadas na PCA. Foi necessário efetuar um pré-processamento nos dados, pois a ordem de grandeza entre eles era muito discrepante, como mostra a Tabela 9. O tipo de pré-processamento efetuado foi o autoescalado (ver item 2.5. deste capítulo).

Após a execução dos cálculos para a PCA, foram gerados gráficos de *scores* e *loadings*. A Figura 11 mostra os gráficos obtidos.

Ao estudar os gráficos dos *scores*, visualizam-se diferentes comportamentos para os modificadores químicos. Em primeira instância, nota-se que nos *scores* de PC1xPC2 (Figura 11a), o Zr foi totalmente segregado dos demais, sendo o PC1 responsável por esta separação. Com a ajuda da Figura 11b verifica-se que as

propriedades responsáveis por esta separação são os raios atômico - RA e covalente - RC, resistividade elétrica - RE e volume molar - VM. Já na Figura 11c verifica-se que o PC3 estabelece uma marcante diferenciação entre os metais que formam, preferencialmente, carbetos (Zr, W e Mo) dos que formam preferencialmente óxidos (Ir e Rh). Em um segundo plano, o Zr apresenta-se totalmente separado dos outros metais formadores de carbetos. Ao se confrontarem os gráficos de *scores* e *loadings*, nota-se que o W e Mo estão associados, principalmente, com os pontos de fusão - PF e ebulição - PE, e condutividade térmica - CT. Já os metais formadores de óxidos estão relacionados com número - Z e massa atômica - A, eletronegatividade - ELE e densidade - D. As demais propriedades físico-químicas estão diretamente ligadas ao Zr, e uma das propriedades mais marcantes é a resistividade elétrica - RE que é aproximadamente 8 vezes maior para o Zr quando comparada com os demais metais estudados (ver Tabela 9).

Tabela 9: Propriedades físico-químicas empregadas na PCA [63].

Propriedades físico-químicas	Metais (Modificadores)				
	W	Zr	Rh	Ir	Mo
Número Atômico – Z	74	40	45	77	42
Massa Atômica – A	183,80	91,22	102,91	192,20	95,94
Raio Atômico (Å) – RA	1,34	1,60	1,34	1,36	1,36
Raio Covalente (Å) – RC	1,30	1,45	1,25	1,26	1,29
Raio Iônico (Å) – RI	0,62	0,79	0,68	0,68	0,70
Ponto de Fusão (°C) – PF	3370	1852	1960	2443	2610
Ponto de Ebulição (°C) – PE	5900	3580	3960	4500	5560
Densidade (g cm <sup>-3</sup> ) – D	19,30	6,51	12,40	22,40	10,22
Resistividade Elétrica (μohm/cm) – RE	5,65	40,00	4,33	4,71	5,20
Condutividade Térmica (cal.cm/s°Ccm <sup>2</sup> ) – CT	0,397	0,040	0,210	0,140	0,34
Eletronegatividade – ELE	2,36	1,33	2,28	2,20	2,16
Volume Molar (cm <sup>3</sup> ) – VM	9,53	14,02	8,29	8,57	9,39
Calor Específico (cal/g°C) – CE	0,033	0,070	0,060	0,030	0,066

Desta forma, com a união dos dados obtidos experimentalmente (ver Figura 10) e os dados obtidos com a PCA (ver Figura 11), escolheu-se o Zr como modificador químico permanente para dar prosseguimento aos experimentos com o Al, Cd e Pb.

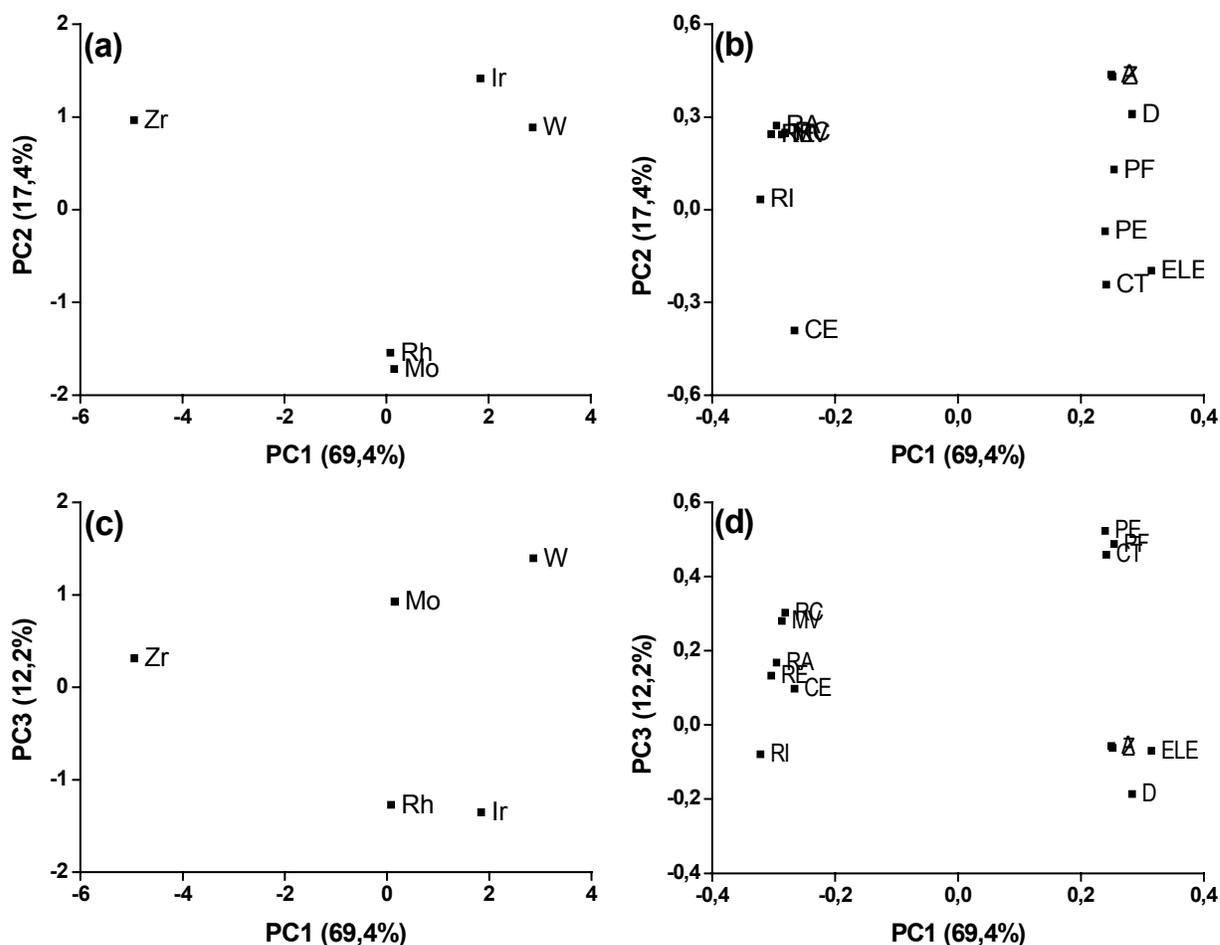


Figura 11: Gráficos dos *scores* (a, c) e dos *loadings* (b, d) para os modificadores químicos permanentes estudados. Para os símbolos, vide Tabela 9.

## 5. CONCLUSÃO PARCIAL

Nos trabalhos executados neste primeiro capítulo, foram observadas as valiosas contribuições fornecidas com o emprego de recursos quimiométricos na atomização eletrotérmica. Em química analítica, a quantidade e a qualidade dos dados analíticos têm aumentado de forma exponencial, e o emprego de ferramentas que visem o melhor entendimento e rapidez na aquisição destas informações é, sem dúvida, de grande valia.

Nos processos de otimização das temperaturas de pirólise e atomização, observou-se que, com o emprego de um método matemático simples, foram otimizados parâmetros importantes para ETAAS. Além disso, foi realizada uma

menor quantidade de experimentos, fato este que contribuiu para maior economia, menor desgaste da plataforma, e redução de esforços.

Os resultados obtidos nas otimizações foram confrontados com aqueles oriundos da PCA, sendo escolhido o Zr no prosseguimento dos experimentos com suspensões de amostras biológicas. Os testes com suspensões serão iniciados com temperaturas de pirólise e atomização, respectivamente, iguais a 500 e 1500°C (para Cd), 910 e 1850°C (para Pb) e 1100 e 2400°C (para Al).

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] Ni, Z. M.; Shan, X. Q., *Spectrochim. Acta Part B*, 1987, **42**, 937.
- [2] L'vov, B. V., *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 924A.
- [3] Miller-Ihli, N. J., *Spectrochim. Acta Part B*, 1989, **44**, 1221.
- [4] Barnard, T. W.; Crockett, M. I.; Ivaldi, J. C.; Lundberg, P. L., *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 1225.
- [5] Schlemmer, G.; Welz, B., *Spectrochim. Acta Part B*, 1986, **41**, 1157.
- [6] Ediger, R. D., *At. Absorpt. Newslett.*, 1975, **14**, 127.
- [7] Tsalev, D. L.; Dimitrov, T. A.; Mandjukov, P. B., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 189.
- [8] Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 147.
- [9] Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I.; Mandjukov, P. B., *Spectrochim. Acta Rev.*, 1990, **13**, 225.
- [10] Shan, X. Q.; Bei, W., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 791.
- [11] Weibus, G.; Langmyhr, F. J.; Thomassen, Y., *Anal. Chim. Acta*, 1981, **128**, 23.
- [12] Long-Zhu, J.; Ni, Z. M., *Can. J. Spectrosc.*, 1981, **26**, 219.
- [13] Mandjukov, P. B.; Tsakovski, S. L.; Simeonov, V. D.; Stratis, J. A., *Spectrochim. Acta Part B*, 1995, **50**, 1733.
- [14] Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I., *Spectroscopy Lett.*, 1992, **25**, 221.
- [15] Lima, E.C.; Krug, F. J.; Jackson, K. W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1998, **53**, 1791.
- [16] Kuzovlev, I. A.; Kuznetsov, Y. N.; Sverdlina, O. A., *Zavod, Lab.*, 1973, **39**, 428.
- [17] Volynsky, A. B.; Sedykh, E. M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 71.
- [18] Michaelis, M. R. A.; Wegscheider, W.; Ortner, H. M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 503.
- [19] Zatka, V. J., *Anal. Chem.*, 1978, **50**, 538.
- [20] Fritzsche, H.; Wegscheider, W.; Knapp, G.; Ortner, H. M., *Talanta*, 1979, **26**, 219.
- [21] Luguera, M.; Madrid, Y.; Cámara, C., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 669.
- [22] Iwamoto, E.; Shimazu, H.; Yokota, K.; Kumamaru, T., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 421.
- [23] Shuttler, I. L.; Feuerstein, M.; Schlemmer, G., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 1299.
- [24] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Ferreira, A. T.; Barbosa Júnior, F., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 269.
- [25] Rademeyer, C. J.; Radziuk, B.; Romanova, N.; Skaugset, N. P.; Skogstad, A.; Thomassen, Y., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 739.
- [26] Tsalev, D. L.; D'ulivo, A.; Lampugnani, L.; Marco, M.; Zamboni, R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 1003.
- [27] Bulska, E.; Jedral, W., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 49.
- [28] Pyrzynska, K., *Spectrochim. Acta Part B*, 1995, **50**, 1595.
- [29] Bulska, E.; Chelmecki, G.; Hulanicki, A., *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 1996, **41**, 5.
- [30] Tsalev, D. L.; D'ulivo, A.; Lampugnani, L.; Marco, M.; Zamboni, R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1996, **11**, 979.

- [31] Tsalev, D. L.; D'ulivo, A.; Lampugnani, L.; Marco, M.; Zamboni, R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1996, **11**, 989.
- [32] Rademeyer, C.; Radziuk, B.; Romanova, N.; Thomassen, Y.; Tittarelli, P., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 81.
- [33] Imai, S.; Kubo, Y.; Yonetani, A.; Ogawa, N.; Kikuchi, Y., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 1199.
- [34] Lima, E. C.; Barbosa Júnior, F.; Krug, F. J.; Guaita, U., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 1601.
- [35] Silva, J. B. B.; Silva, M. A. M.; Curtius, A. J.; Welz, B., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 1737.
- [36] Meeravali, N. N.; Kumar, S. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, **16**, 527.
- [37] Meeravali, N. N.; Kumar, S. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 704.
- [38] Lima, E. C.; Barbosa, R. V.; Brasil, J. L.; Santos, A. H. D. P., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 1523.
- [39] Grinberg, P.; Campos, R. C.; Sturgeon, R. E., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 693.
- [40] Egreja Filho, F. B.; Reis, E. L.; Jordão, C. P.; Pereira Neto, J. T., *Quim. Nova*, 1999, **22**, 324.
- [41] Ferreira, M. M. C.; Faria, C. G.; Paes, E. T., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1999, **47**, 289.
- [42] Costa Filho, P. A.; Poppi, R. J., *Quim. Nova*, 1999, **22**, 405.
- [43] Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Shuttler, W. J.; Tyson, J. F., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 215R.
- [44] Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Shuttler, W. J.; Tyson, J. F., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **8**, 197R.
- [45] Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Shuttler, W. J.; Tyson, J. F., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **12**, 327R.
- [46] Jackson, K. W.; Lu, S., *Anal. Chem.*, 1998, **70**, 363R.
- [47] Jackson, K. W., *Anal. Chem.*, 2000, **72**, 159R.
- [48] Hill, S. J.; Arowolo, T. A.; Butler, O. T.; Chenery, R. N.; Cook, J. M.; Cresser, M. S.; Miles, D. L., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 284.
- [49] Hill, S. J.; Arowolo, T. A.; Butler, O. T.; Cook, J. M.; Cresser, M. S.; Harrington, C.; Miles, D. L., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2003, **18**, 170.
- [50] Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E., **Planejamento e Otimização de Experimentos**, 2. ed., Campinas: Editora da Unicamp, 1996.
- [51] Miller, J. C.; Miller, J. N., **Estadística para Química Analítica**, 2. ed., Wilmington: Addison-Wesley Iberoamerican, S. A., 1993.
- [52] Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S., **Statistics for experimenters. An introduction to design, data analysis and model building**, Nova York: Wiley, 1978.
- [53] Hilligsoe, B.; Hansen, E. H., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1997, **358**, 775.
- [54] Legret, M.; Divet, L., *Analisis*, 1988, **16**, 97.
- [55] Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1987, **2**, 37.
- [56] Malinowski, F.; Howery, D., **Factor Analysis in Chemistry**, New York: Wiley, 1980.

- [57] Martens, H.; Næs, T., **Multivariate Calibration**, Chichester: John Wiley & Sons. 1993.
- [58] **The THGA Graphite Furnace: Techniques and Recommended Conditions**, Überlingen: Perkin-Elmer, 1995.
- [59] Barbosa Jr., F.; Lima, E. C.; Krug, F. J., *Analyst*, 2000, **125**, 2079.
- [60] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Jackson, K. W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1998, **53**, 1791.
- [61] Lima, E. C.; Barbosa Jr., F.; Krug, F. J., *Anal. Chim. Acta*, 2000, **409**, 267.
- [62] Lima, E. C.; Barbosa Jr., F.; Krug, F. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 1913.
- [63] Lide, D. R., **Handbook of chemistry and physics**, 78<sup>o</sup> ed, Boca Raton: CRC Press, Inc., 1997-1998.

---

---

## CAPÍTULO 2

### VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS QUÍMICOS PERMANENTES: DETERMINAÇÃO DE Al, Cd E Pb EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS NA FORMA DE SUSPENSÕES

Parte das informações deste capítulo foram publicadas nos seguintes artigos científicos:

Pereira-Filho, E. R.; Pérez, C. A.; Arruda, M. A. Z.. X-ray microfluorescence with synchrotron radiation in the L'vov platform studies. ***Activity Report - Laboratório Nacional de Luz Síncrotron***, 2001, p89.

Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.. Evaluation of Zr as permanent chemical modifier by using surface, chemometrics and thermogravimetric analyses in the Cd and Pb determinations in biological slurry samples by ET AAS. *Em preparação.*

---

---

## 1. OBJETIVOS

Os objetivos deste segundo capítulo estão centrados na utilização do Zr como modificador permanente na determinação de Al, Cd e Pb em amostras biológicas na forma de suspensão. Estes metais foram determinados em amostras de leite em pó (Al) e amostras certificadas de materiais biológicos (Cd e Pb). Para averiguar o desempenho do Zr na eliminação de possíveis concomitantes, algumas plataformas de L'vov foram mapeadas com o emprego de uma micro sonda de fluorescência de raios-X com radiação síncrotron. Na continuação da revisão bibliográfica serão abordados temas relacionados com o (1) emprego de amostragem por suspensão em ETAAS e (2) uso de SEM em ETAAS.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. EMPREGO DE SUSPENSÕES EM ETAAS

A introdução da amostra é, em qualquer técnica analítica, sempre uma etapa crítica e muitas vezes deve ser considerada como uma extensão do processo de preparo [1]. O rápido e constante desenvolvimento das atividades humanas necessita de um crescente número de análises químicas, sendo que as amostras podem ser divididas em três categorias: (1) soluções aquosas, tais como, água, bebidas, sangue, soro, urina, entre outras; (2) outros líquidos não aquosos (óleos, combustíveis, solventes orgânicos); (3) sólidos, por exemplo, solos, sedimentos, tecido animal, metais, plásticos, entre outros [2].

Em uma revisão crítica, Bendicho e Loos-Vollebregt [3] reportam uma cuidadosa avaliação do emprego de amostras sólidas e amostras na forma de suspensão em ETAAS. A introdução de amostras sólidas em ETAAS apresenta diversas vantagens: redução do tempo de pré-tratamento, baixa contaminação, reduzidas possibilidades de perda do analito durante o pré-tratamento da amostra e redução do uso de produtos químicos potencialmente perigosos. Porém, algumas limitações são encontradas:

- A introdução da amostra sólida no atomizador não é uma tarefa simples, e exige muito cuidado e treinamento por parte do operador, pois podem ocorrer perdas da amostra durante a etapa de pesagem e transporte ao equipamento ou atomizador;
- Problemas com a padronização;
- O uso de modificadores químicos é limitado, pela dificuldade de interações do modificador com as partículas da amostra sólida;
- Problemas com a diluição da amostra, quando a concentração do analito de interesse é alta e
- Parte da amostra ou resíduos carbonáceos (no caso, principalmente, de amostras biológicas) podem permanecer no atomizador após o ciclo de aquecimento.

Com os problemas descritos anteriormente, o emprego de suspensões pode, em muitos casos, combinar as vantagens da amostra líquida com a sólida [4]. Porém, algumas características devem ser observadas ao se trabalhar com amostras na forma de suspensão:

- Homogeneidade da amostra;
- Necessidade de moagem e peneiramento;
- Preparação da suspensão;
- Agitação e homogeneização da suspensão;
- Extração do analito das partículas da amostra para a fase líquida da suspensão e
- Influência do tamanho de partículas na sedimentação da suspensão e na eficiência da atomização.

Para responder aos problemas descritos, o uso de agentes estabilizantes, tais como glicerol e agentes tensoativos são altamente recomendados, assim como o emprego de agitadores magnéticos ou por efeito *vortex* ou agitadores ultra-sônicos [3].

Um dos primeiros trabalhos encontrados na literatura sobre o emprego de suspensões em ETAAS relata a determinação de Zn em sedimento marinho [5]. A partir deste trabalho, o emprego de suspensões em ETAAS tem crescido de forma exponencial. Na década de 80 a aplicação de suspensões estendeu-se para outros tipos de amostras, por exemplo, solos [6], sedimentos de rio [7] e materiais biológicos [8]. Entretanto, a partir de 1989, a introdução de uma sonda ultra-sônica acoplada ao

auto-amostrador, deu um novo impulso ao emprego da ETAAS para análise de suspensões [9]. A eficiência do ultra-som está relacionada ao tamanho de partícula, e quanto menor ele for, melhor é a extração do analito de interesse para a fase líquida da suspensão [10]. Consequentemente, o emprego do ultra-som em química analítica tem se tornado cada vez mais comum, e são encontrados trabalhos sobre procedimentos de homogeneização [11], e para extração de compostos inorgânicos e orgânicos de diversas matrizes [12-14].

Além da sonda ultra-sônica, o advento do uso de modificadores químicos permanentes contribuiu de forma positiva para o emprego de suspensões em ETAAS, pois são reduzidas as interações entre a amostra e a superfície grafitica (ver outras características no Capítulo 1) [15].

Entretanto, emprego de modificadores químicos permanentes, juntamente com suspensões e ETAAS, ainda não é objeto de um número grande de trabalhos na literatura. Recentemente, Barbosa Jr. *et al.* [16], empregaram uma plataforma de L'vov tratada com 250  $\mu\text{g}$  de W + 200  $\mu\text{g}$  de Rh, para a determinação de As em suspensões de sedimentos e solos. O LD encontrado para o As foi de 0,4  $\mu\text{g/L}$  e RSD de 3,8% para um total de 783 medidas. Em um outro trabalho recente, Lavilla *et al.* [17] determinaram Cd e Pb em suspensões de mexilhões. A amostra foi suspensa empregando-se ultra-som, cujos parâmetros foram otimizados empregando planejamento fatorial  $2^4$  (16 experimentos). Após a otimização, os fatores mais importantes foram o tamanho de partícula e concentração do  $\text{HNO}_3$ .

Slaveykova e Hoenig [18], na determinação de Pb e Sn em suspensões de plantas e sedimentos, otimizaram 7 variáveis, tais como, tempo de secagem, tempo e temperatura de pirólise, temperatura de atomização, efeitos do modificador químico e da etapa de refrigeração do forno de grafite e volume de amostra injetado. Na otimização os autores empregaram um planejamento fatorial fracionário ( $2^{7-3}$ ), e estudou-se, também, o emprego de diversos modificadores químicos convencionais (Mg, W, Mg+Pd, Mg+Ir e Ir+W+ $\text{PO}_4^{3-}$ ). O melhor modificador químico foi a mistura Mg+Ir, pois produziu picos mais simétricos que os demais modificadores. Os parâmetros de maior influência sobre a determinação de Pb e Sn foram o tempo de

secagem, temperaturas de pirólise e atomização e a presença de modificador químico.

Em um outro trabalho, Krivan e Rommelt [19] determinaram 14 metais (Al, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Si e Zn) em suspensões de nitrato de boro, empregando ETAAS. Os autores utilizaram  $Mg(NO_3)_2$  ou  $Ca(NO_3)_2$  como modificadores químicos. Os resultados foram comparados com AAS e ICP OES. Os limites de detecção obtidos para Cd e Pb foram iguais a 0,002 e 0,04  $\mu g/g$ , respectivamente.

O Quadro 3 mostra algumas aplicações da técnica de amostragem de suspensões, juntamente com ETAAS. Outras aplicações podem ser encontradas em uma revisão realizada por Magalhães e Arruda [20].

Quadro 3: Aplicações de amostras na forma de suspensões em ETAAS

<b>Matriz(es)</b>	<b>Analito(s)</b>	<b>Características Principais</b>	<b>Ref.</b>
Alimentos	Cd	Modificadores químicos Pd <sup>2+</sup> e (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .	[21]
Material biológico	Cr, Co, Pb e Mn	Concentração da suspensão a 1% m/v.	[22]
Sedimento marinho	Pb	Uso de Pd <sup>2+</sup> como modificador químico e microscopia eletrônica para estudar as interações entre a suspensão e o modificador.	[23]
Sedimento marinho e material biológico	Mn, Cu e Fe	Uso de sonda ultra-sônica e Triton X-100 para estabilizar a suspensão.	[24]
Leite	Al	As amostras foram diluídas em HNO <sub>3</sub> 0,2 % (v/v) e o Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> foi empregado como modificador químico.	[25]
Suco de frutas	Se	Emprego de um sistema de fluxo para misturar a amostra ao modificador químico, homogeneizar, filtrar e transportar até o auto-amostrador.	[26]
Sedimento marinho	Pb	Emprego de duas etapas de pirólise sendo a primeira a 480°C e a segunda a 900°C.	[27]
Fígado e rim de cervo	Cd, Cu e Pb	Amostras dispersas a alta velocidade em 20 mL de etanol+água (1+9 v/v) contendo 0,25 % (m/m) de hidróxido de tetrametilamônio.	[28]
Sedimento Marinho	As, Cd, Hg, Pb e Sn	Emprego de Triton-X para estabilização da suspensão.	[29]
Cigarro	As	Emprego de geração de hidretos para a determinação de As, e banho de ultra-som para extrair aproximadamente 90% do analito.	[30]
Materiais certificados	Cd, Cu, Mn e Pb	Não foram empregados modificadores químicos e a etapa de pirólise foi retirada.	[31]
Café e chá	Al	Emprego de Triton X-100 para estabilizar a suspensão e Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> como modificador químico. LD e m <sub>o</sub> iguais a 2 µg/L e 45 pg, respectivamente	[32]
Cabelo	Hg	Emprego de Pd <sup>2+</sup> e ácido ascórbico como modificadores químicos.	[33]
Peixe	Pb	Emprego de ultra-som no preparo da suspensão.	[34]
Materiais biológicos	Cu	Plataformas modificadas com W e Rh e estáveis por cerca de 300 ciclos de aquecimento	[35]
Cabelo	Cd, Cu e Pb	As amostras foram pulverizadas em moinho criogênico e foram preparadas suspensões de concentrações iguais a 1g/L (Cu e Pb) e 5 g/L (Cd).	[36]
Sedimento marinho, solo e carvão	Sn	Os autores empregaram Ir como modificador químico permanente e as condições analíticas foram otimizadas com planejamento fatorial	[37]

## 2.2. EMPREGO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM ETAAS

Com o aumento do uso da ETAAS em química analítica, sentiu-se a necessidade de estudar vários fenômenos relacionados com as mudanças de morfologia dos tubos ou plataformas de grafite, após um determinado número de experimentos, determinações ou tratamentos. Em um dos primeiros trabalhos

encontrados na literatura sobre SEM e ETAAS, Ortner *et al.* [38], comprovaram diversas mudanças na morfologia dos tubos de grafite com o aumento do número de ciclos de aquecimento. Os autores empregaram grafite policristalino e afirmaram que as mudanças na morfologia eram devidas à sublimação de pequenos "cristais" de grafite.

Em um outro trabalho, Welz *et al.* [39] empregaram plataformas totalmente construídas em grafite pirolítico, e inseridas em fornos de eletrografite policristalino. Os autores concluíram que o tempo de vida das plataformas de grafite pirolítico foi de cerca de 1000 ciclos de aquecimento com uma temperatura de atomização de 2560°C. Já na presença de matrizes corrosivas este valor caiu para cerca de 500 ciclos.

O grafite pirolítico é conhecido há mais de 100 anos, e é obtido por meio da decomposição de hidrocarbonetos, usualmente o metano, a 2000°C. As principais vantagens deste material estão na maior impermeabilidade a gases, em possuir um alto ponto de sublimação (3700°C) e alta condutividade térmica, com conseqüente aquecimento uniforme e em ser puro. O grafite pirolítico é 10 vezes mais resistente à oxidação do oxigênio do que o grafite normal [40,41].

Dando continuidade a série de trabalhos iniciados por Ortner *et al.* [38] em 1985, Welz *et al.* [42], estudaram a morfologia de diversas plataformas de grafite tratadas com altas concentrações de La, na determinação de P. Os autores concluíram que houve a formação de uma densa camada de carbeto de lantânio. No último trabalho da série, Welz *et al.* [43] empregaram um tubo totalmente construído em grafite pirolítico, e com o uso de SEM, foi possível visualizar o aparecimento de esfoliações e descamações.

Em um trabalho recente, Rademeyer *et al.* [44] trataram diversos fornos de grafite pirolítico com Ir. Alguns foram tratados com o uso de uma solução do metal e outros por meio de eletrodeposição. O desempenho do tratamento foi avaliado com micrografias provenientes de elétrons retroespalhados, e os autores concluíram que com o uso da eletrodeposição foi obtida uma distribuição mais homogênea do modificador sobre o forno.

Com os trabalhos apresentados neste item verifica-se que a SEM é amplamente utilizada em estudos relacionados com fornos de grafite. Além disso, ela pode ser de grande valia no estudo e/ou elucidação de mecanismos de atomização em ETAAS. Outras técnicas microscópicas são encontradas na literatura para estudar plataformas de grafite, como por exemplo, a STM [45].

### 2.3. RADIAÇÃO SÍNCROTRON

A radiação síncrotron é uma radiação eletromagnética emitida por elétrons relativísticos (elétrons com energia  $E \gg mc^2$ ) viajando em uma trajetória curva. Elétrons relativísticos são gerados em aceleradores circulares com energia da ordem de giga elétron volts (GeV). As aplicações da radiação síncrotron são inúmeras, destacando-se seu uso em biologia estrutural, catálise em química, física de superfícies, física do estado sólido, microestrutura e raios-X [46].

As características mais importantes da radiação síncrotron estão centradas no fato de que seu espectro estende-se continuamente em comprimentos de onda na região do infravermelho até raios-X duros, e a radiação é linearmente polarizada no plano da órbita do elétron e elipticamente polarizada acima e abaixo deste plano. Além destes fatores a radiação síncrotron é altamente colimada, originando um feixe de elétrons com brilho excepcional [47]. Adicionalmente, a radiação é cerca de  $10^6$  vezes mais potente que a produzida por um tubo de raios-X convencional [48]. Estas características são empregadas, principalmente, em medidas de fluorescência [46].

O surgimento e difusão de laboratórios de radiação síncrotron deu-se na década de 60 do século XX [46,49], e neste capítulo apenas os componentes principais para gerar radiação síncrotron serão citados. O componente de maior importância é o anel de armazenamento da radiação síncrotron. Este dispositivo é formado por estruturas magnéticas (comumente chamadas de *bend*) que curvam os elétrons em um círculo e produz radiação síncrotron. Outros componentes de destaque são denominados de *wiggler's*, que são usados para produzir ou aumentar radiação e as bombas de vácuo empregadas para evacuar o anel de armazenamento.

### 2.3.1. LABORATÓRIO NACIONAL DE LUZ SÍNCROTRON

Após descrever de maneira muito sucinta a geração, características/propriedades e emprego da radiação síncrotron, neste item serão mostradas e particularizadas algumas propriedades do laboratório de luz síncrotron disponível no Brasil.

A construção do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS teve início em 1987, na cidade de Campinas, sob o gerenciamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e do Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT. O LNLS é um dos maiores projetos científicos já realizados no Brasil, e, em 1997, foi celebrado o término da sua construção. Os objetivos da construção do LNLS estão voltados em dotar o país de um laboratório capaz de gerenciar e conduzir pesquisas científicas. Estas pesquisas devem ter, preferencialmente, uma grande variedade de aplicações tecnológicas, nível elevado e relevância internacional [50]. Outro objetivo importante está em atender a comunidade científica nacional e internacional no desenvolvimento de experimentos [51].

As principais características operacionais do LNLS são mostradas no Quadro 4. No acelerador linear, os elétrons são acelerados em duas fases: na primeira, eles ganham energia até 80 KeV ao atravessarem um campo eletrostático em um componente chamado canhão de elétrons; na segunda, estes elétrons entram em 4 guias de onda, chamadas estruturas aceleradoras, onde ondas de rádio-freqüência lhes fornecem energia de até 100 MeV.

Quadro 4: Principais características operacionais do LNLS [51].

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor/Característica</b>
Energia de operação	1,37 GeV
Injetor	Acelerador linear
Energia injetada	120 MeV
Corrente elétrica nominal	100 mA
Circunferência	93,21 m
Diâmetro médio	30 m
Tempo de vida do elétron	10 horas

O acelerador linear do LNLS possui aproximadamente 18 metros de comprimento [52]. Como descrito no Quadro 4, o anel de armazenamento possui

aproximadamente 93 m de circunferência. No anel de armazenamento um dos parâmetros mais importantes é o tempo de vida dos elétrons que estão armazenados. Normalmente este tempo deve ser da ordem de 10 horas ou mais, de modo que os experimentos possam ser efetuados durante todo um dia de trabalho. A Figura 12 mostra um esquema do anel de armazenamento, acelerador linear, dipolos e estação experimental.

O LNLS conta atualmente com cerca de nove linhas (Cristalografia de Proteínas, Difração de Raios-X, Fluorescência de Raios-X, entre outras) ligadas à radiação síncrotron [51]. No próximo tópico será dada atenção especial à linha XRF do LNLS, onde serão particularizadas as principais características da micro sonda de raios-X.

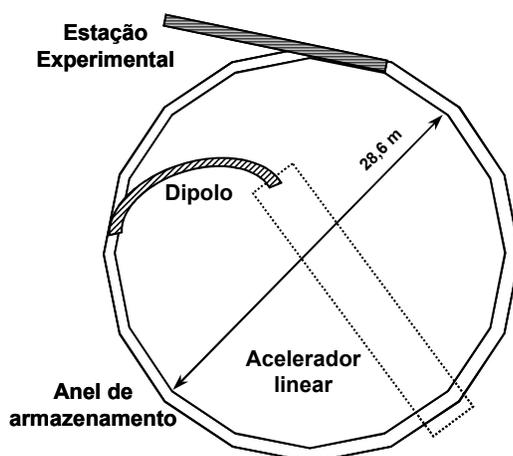


Figura 12: Esquema do anel de armazenamento do LNLS: acelerador linear (retângulo tracejado), dipolo, anel de armazenamento com aproximadamente 29 m de diâmetro e estação experimental.

### 2.3.2. MICRO SONDA DE FLUORESCÊNCIA RAIOS-X

O emprego de micro sonda de raios-X possibilita a determinação de uma variedade de elementos químicos em amostras de dimensões diminutas, inclusive permitindo a verificação da distribuição espacial dos mesmos. Entretanto, a determinação de elementos em níveis diminutos (ng/g), empregando suas radiações características, requer uma fonte de raios-X muito potente. Este requerimento tem como finalidade evitar problemas severos de correção de fundo, principalmente

aqueles gerados a partir da emissão de elétrons secundários. Tal problema pode ser evitado ao se empregar uma fonte de raios-X extremamente intensa, como as encontradas em laboratórios de luz síncrotron [53].

Neste sentido, o emprego de radiação síncrotron e micro sonda de fluorescência de raios-X ( $\mu$ SRXRF) abre inúmeras oportunidades para determinação e/ou mapeamento de elementos químicos em amostras com diferentes propriedades físicas [48].

O emprego de micro fluorescência de raios-X reúne algumas vantagens, tais como: (1) permite a utilização de amostras condutoras e não condutoras de eletricidade, (2) as determinações podem ser efetuadas sem o emprego de vácuo, (3) a amostra pode ser analisada a temperatura ambiente, (4) dependendo do material da amostra, a sonda pode penetrar na mesma produzindo informações sobre a sua composição interna, (5) a micro fluorescência pode ser empregada em amostras heterogêneas e com forma não definida, e (6) é uma técnica multi-elementar, apresentando boa sensibilidade [48,49,53,54].

A primeira micro sonda de fluorescência de raios-X acoplada à radiação síncrotron foi proposta em 1972 por Horowitz e Howell [55], e atualmente diversas micro sondas são encontradas ao redor do mundo. Os equipamentos que as compõem são similares, sendo basicamente compostos por: (1) dispositivo para focalizar o feixe de luz na amostra (ou simplesmente uma abertura); (2) dispositivo para posicionar e/ou movimentar a amostra durante a medição; (3) sistema para detecção da fluorescência de raios-X e (4) microscópio convencional para visualizar a posição da amostra que está sendo analisada. As medidas em micro fluorescência de raios-X podem ser efetuadas de três maneiras: varredura de uma determinada área da amostra, varredura em linha e varredura em pontos [55].

Na estação experimental da linha XRF do LNLS [56], a focalização do feixe de luz é feita por meio de um tubo de quartzo que permite um feixe de aproximadamente 30  $\mu$ m de diâmetro, sendo o posicionamento da amostra efetuado por um sistema de controle remoto que permite a movimentação da mesma nos eixos X, Y e Z. A visualização da amostra se dá com uma câmara CCD acoplada a

um microscópio ótico convencional. As imagens geradas são monitoradas remotamente na estação de controle da linha XRF.

A parte ótica da linha de luz é ajustada de acordo com a faixa do espectro de interesse do usuário. Ela consiste, basicamente, de câmaras com espelhos, monocromadores e fendas, sendo que o tipo de espelhos e monocromadores difere bastante se o usuário está interessado em fazer, por exemplo, espectroscopia de ultravioleta ou difração de raios-X [52]. Na linha XRF é necessário empregar filtros de Al para se evitar que o feixe de luz (muito intenso) danifique alguns componentes da linha de luz [57]. Desta forma, na linha XRF do LNLS só é possível detectar elementos químicos com números atômicos superiores ao do Al.

O detector empregado na linha de luz XRF é do tipo Si(Li); e este detector permite que a energia do fóton dos raios-X seja convertida em pulsos de voltagem. Para se evitar a mobilidade dos íons de Li e reduzir o ruído eletrônico, o sistema de detecção é refrigerado com N<sub>2</sub> líquido [58].

Na literatura são encontradas diversas aplicações para a  $\mu$ SRXRF. Recentemente, de Jesus *et al.* [59] determinaram, simultaneamente, oito metais em folhas de *Nerium oleander*. Estas amostras foram coletadas em algumas ruas da cidade do Rio de Janeiro e os resultados encontrados foram comparados com aqueles obtidos em folhas oriundas da zona rural. Em um outro trabalho, Simabuco e Matsumoto [60] empregaram fluorescência de raios-X com reflexão total na determinação de 12 elementos em águas de chuva da região de Campinas. A micro fluorescência de raios-X com radiação síncrotron também foi aplicada para a visualização da distribuição espacial de alguns metais em amostras de cálculo dentário [57].

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1 MATERIAL**

Aos equipamentos descritos no capítulo 1 são acrescentados os materiais a seguir.

- Banho de ultra-som, marca Neytech, modelo 28H;
- Peneiras com 150 e 75  $\mu\text{m}$  de abertura, marca Bertel;
- Forno de microondas tipo cavidade, marca Provecto, modelo DGT 100;
- Microscópio eletrônico de varredura, marca Jeol, modelo JSM 6400;
- Chapa aquecedora, marca Marconi, modelo MA 289.

### 3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes listados foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho e possuem grau analítico. Todas as soluções foram preparadas utilizando água destilada/deionizada.

- Os seguintes sais (Merck) foram empregados nos testes com concomitantes:  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , KCl e  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ;
- Peróxido de hidrogênio 30% v/v ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), marca Merck.

Todas as soluções foram preparadas diariamente em água destilada/deionizada e acondicionadas em frascos de polietileno. A relação das soluções empregadas nesta parte do trabalho encontra-se a seguir:

- Nos testes com concomitantes (macroconstituintes) foram empregadas soluções estoques de Ca, K, Mg e Na em concentrações iguais a 5 % (m/v).
- Nos testes com concomitantes (microconstituintes) foram empregadas soluções estoques de Cu, Fe, Mn e Zn em concentrações iguais a 0,4% (m/v).

### 3.3. AMOSTRAS

Na verificação do desempenho do Zr como modificador químico foram utilizadas três amostras. Na determinação de Al empregou-se uma amostra de leite em pó comercial, sendo que a granulometria estabelecida compreendeu a faixa de 75 a 150  $\mu\text{m}$ . Na preparação da suspensão foi pesado aproximadamente 1,000 g de amostra e esta massa transferida para um balão volumétrico de 100 mL. O volume do balão foi completado com  $\text{HNO}_3$  0,2% (v/v), e levado a um banho de ultra-som por aproximadamente 20 min.

No caso do Cd foi utilizada uma amostra certificada de fígado bovino (Bovine Liver, NIST 1577b). O preparo da suspensão deu-se pesando 100 mg da amostra e transferindo-se a massa para um balão volumétrico de 25 mL. O volume foi ajustado com  $\text{HNO}_3$  0,2 % (v/v) e levado a um banho de ultra-som. Para o Pb foi empregada

uma amostra certificada de folhas de faia (Beech Leaves, CRM 100). Foram pesados 40 mg da amostra, o volume ajustado para 10 mL e levado a um banho de ultra-som. Outras amostras foram empregadas na determinação de Cd:

- Material certificado de referência de farinha integral (Wholemeal flour, CRM 189), preparado pelo *Community Bureau of Reference* (BCR). Suspensão preparada pesando-se 100 mg e ajustando-se o volume para 10 mL com HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v).
- Material certificado de referência de rim de porco (Pig kidney, CRM 186), preparado pelo BCR. Suspensão preparada pesando-se 40 mg e ajustando-se o volume para 10 mL com HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v).
- Material certificado de referência de folhas de faia (Beech leaves, CRM 100), preparado pelo BCR. Suspensão preparada pesando-se 100 mg e ajustando-se o volume para 25 mL com HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v).

### 3.4. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE Al

Após a execução dos processos de otimização das temperaturas de pirólise e atomização e escolha do Zr como modificador químico permanente, foram feitos alguns experimentos para atestar a viabilidade do uso do Zr. Neste caso, a massa empregada de modificador químico foi aumentada de 250 µg para 500 µg, visando obter um maior tempo de vida útil do recobrimento. O programa de aquecimento para recobrimento foi o mesmo descrito na Tabela 2 (Capítulo 1).

Nestes testes não foi possível o emprego da sonda ultra-sônica, pois a mesma possui entre 5,5 a 6,8 % de Al em sua constituição [61].

Alíquotas de 20 µL da suspensão de leite em pó foram empregadas em cada ciclo de aquecimento. Deve-se ressaltar que, no caso do Al e a cada 50 ciclos, um novo recobrimento foi executado. Para realizar um estudo mais sistemático foram utilizadas plataformas de L'vov com 50, 100, 150, 200 e 500 ciclos de aquecimento. Para comparação, foi empregada uma plataforma tratada de forma convencional com Mg (ver Tabela 1). Essa plataforma foi utilizada por 500 ciclos de aquecimento.

Após a execução de todos os testes, os fornos de grafite foram quebrados e as plataformas de L'vov foram usadas para a obtenção de algumas micrografias por SEM. Alguns fornos de grafite foram manualmente quebrados, entretanto, devido às altas temperaturas de pirólise e atomização alguns fornos apresentavam-se quebradiços. Em alguns casos a plataforma foi retirada com o auxílio de uma pinça.

Foram obtidas micrografias de duas plataformas novas, sendo que a primeira foi apenas condicionada e, a segunda, condicionada e tratada com Zr (500  $\mu\text{g}$ ).

Na obtenção das micrografias por SEM não foi necessário efetuar nenhum tipo de tratamento das plataformas, e a Figura 13 mostra o esquema empregado na aquisição das micrografias. Para cada plataforma foram adquiridas 10 micrografias ao longo do seu eixo longitudinal, com um aumento de 500 vezes (ver quadrados numerados na Figura 13). Este procedimento foi adotado para se obter informações em diferentes pontos da mesma plataforma.

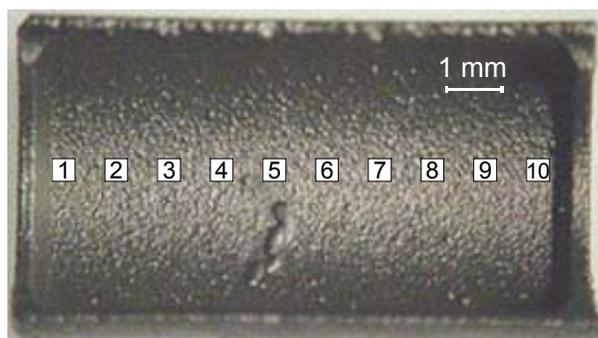


Figura 13: Procedimento usado na obtenção das micrografias a partir das plataformas de L'vov. Os 10 quadrados ilustram as micrografias obtidas a um intervalo aproximado de 1 mm.

A Figura 14 mostra algumas micrografias para as plataformas novas (com e sem recobrimento com Zr), plataformas com 50, 100, 150 e 200 ciclos, e as plataformas com 500 ciclos de aquecimento (emprego de Zr e Mg). Nos espaços cinza localizados no canto inferior direito das micrografias são mostrados, da esquerda para a direita, a escala da micrografia, onde a barra negra corresponde (neste caso) a 100  $\mu\text{m}$ , e os números seguintes são relativos a aceleração de voltagem (20 kV), a data (dia e mês) e o número da micrografia. As micrografias das Figuras 14a-b foram retiradas das posições 8 e 5 das plataformas novas (ver esquema na Figura 13). A posição das demais figuras pode ser, também, identificada com o auxílio do esquema apresentado na Figura 13, por exemplo, a Figura 14e foi obtida a partir da parte inicial da plataforma (posição/micrografia 2).

Ao se estudar as micrografias das plataformas tratadas com Zr, foi verificado que com o aumento do número de ciclos de aquecimento e os novos recobrimentos, a granulometria das partículas do metal sobre a superfície diminuía. Esta informação pode ser visualizada ao se observar, por exemplo, as Figuras 14b e 14g, onde se

comprova uma diminuição do tamanho dos cristais de Zr (estruturas brancas). Este fato contribuiu para confirmar que o modificador químico estava sendo incorporado à plataforma [42]. Na Figura 14c é possível identificar a formação de corrosão (presença de formas circulares), contrastando com a Figura 14a (forno novo), onde a superfície da plataforma se encontra íntegra. Por outro lado, a micrografia obtida a partir da plataforma tratada com Mg (Figura 14h) apresenta-se totalmente diferente das demais, onde se percebe uma superfície plana, contrastando com o forno novo (Figura 14a). Outro aspecto a ser apontado, corresponde à irregularidade dos recobrimentos. Este fato fica evidente ao se analisar as Figuras 14c-e, onde aparecem pontos negros provenientes da superfície gráfica sem recobrimento.

### 3.5. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb

Como no caso do Al, também para o Cd e Pb, foram executados alguns testes, com o intuito de se estudar o desempenho do Zr. Neste caso empregou-se uma amostra certificada de fígado bovino e folhas de faia para o Cd e o Pb, respectivamente. Duas plataformas foram tratadas, também com 500 µg de Zr (Tabela 2), e 20 µL de suspensão eram depositados.

Para efeito de comparação foram utilizadas outras duas plataformas tratadas de maneira convencional com uma mistura de Pd e Mg (ver Tabela 1 do Capítulo 1).

No caso destes três analitos (Al, Cd e Pb) o critério de parada dos experimentos seria atingido quando o RSD das determinações fosse superior a 20% ou quando a plataforma ou forno de grafite se quebrasse.

Antes do início dos testes foi feito um planejamento fatorial ( $2^4$  – dois níveis e quatro variáveis) para a otimização das condições de operação da sonda ultra-sônica. A Tabela 10 mostra as variáveis estudadas e seus respectivos níveis.

Tabela 10: Variáveis estudadas na otimização das condições de operação da sonda ultra-sônica.

Variáveis	Níveis	
	-1	+1
Profundidade da sonda (%)	70	90
Intensidade (%)	50	100
Tempo de sonicação (s)	5	10
Tempo de espera após sonicação (s)	1	2

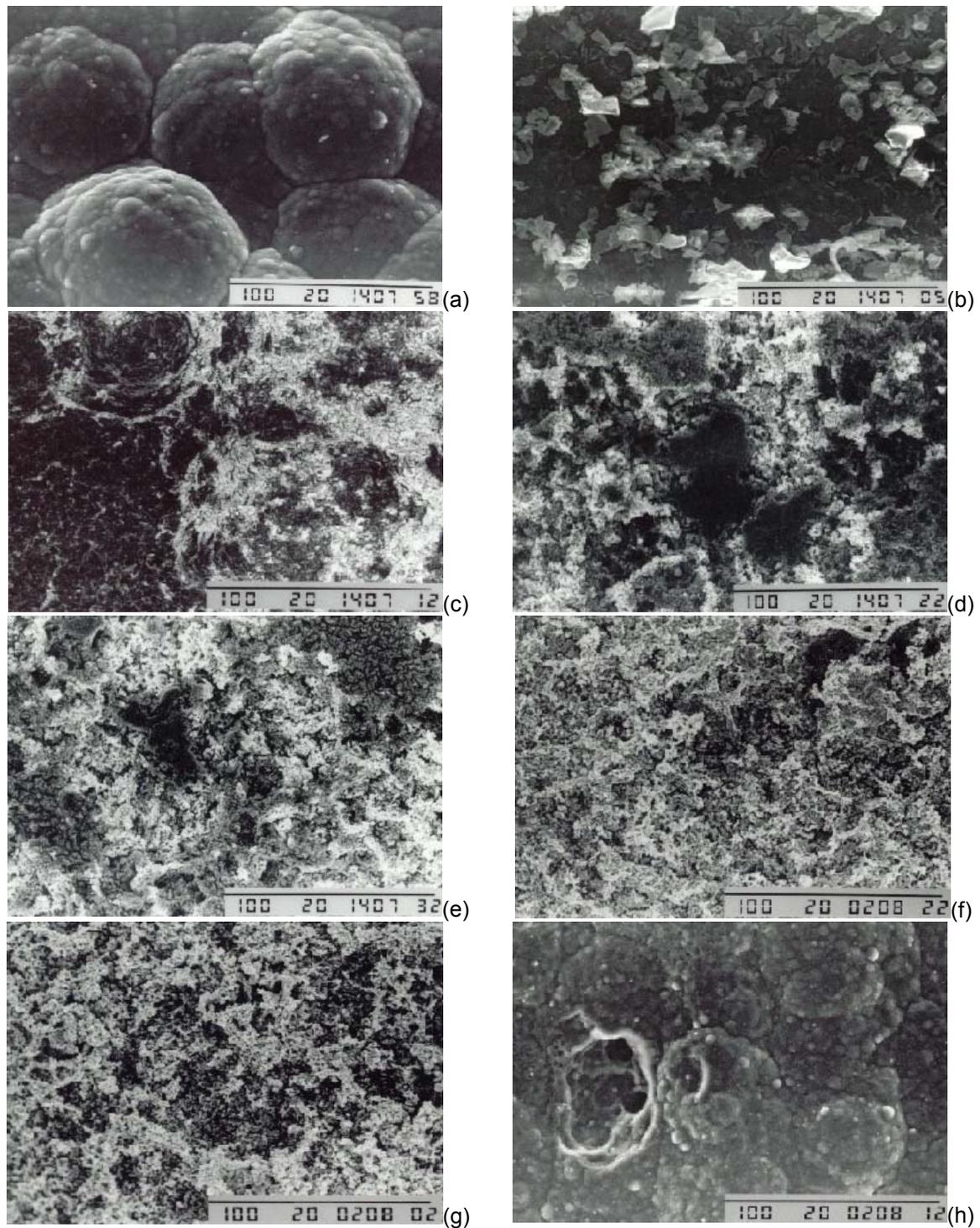


Figura 14: Micrografias obtidas de várias plataformas de L'vov, onde: (a) plataforma nova, (b) plataforma nova e tratada com Zr, (c-g) plataformas com 50, 100, 150, 200 e 500 ciclos de aquecimento, tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Al em suspensão de leite em pó, e (h) plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada com Mg e também empregada na determinação de Al na mesma amostra.

As profundidades de 70 e 90% correspondem à sonda localizada na metade e no fundo do copo do auto-amostrador, respectivamente. As intensidades de 50 e 100% correspondem ao emprego da metade e do total da potência da sonda, respectivamente. A potência máxima e a frequência da sonda são de 7 W (dentro do copo do auto-amostrador) e 33 kHz, respectivamente [61]. Nesta otimização empregou-se uma suspensão de fígado bovino (ver item 3.3. deste capítulo) e o Cd foi determinado. A variável (resposta) otimizada foi a absorbância integrada. A Figura 15 mostra algumas micrografias obtidas nas plataformas tratadas com Zr e Pd + Mg e utilizadas na determinação de Cd e Pb. As micrografias das Figuras 15a-d foram obtidas das posições 4, 6, 6 e 8, respectivamente (ver esquema na Figura 13).

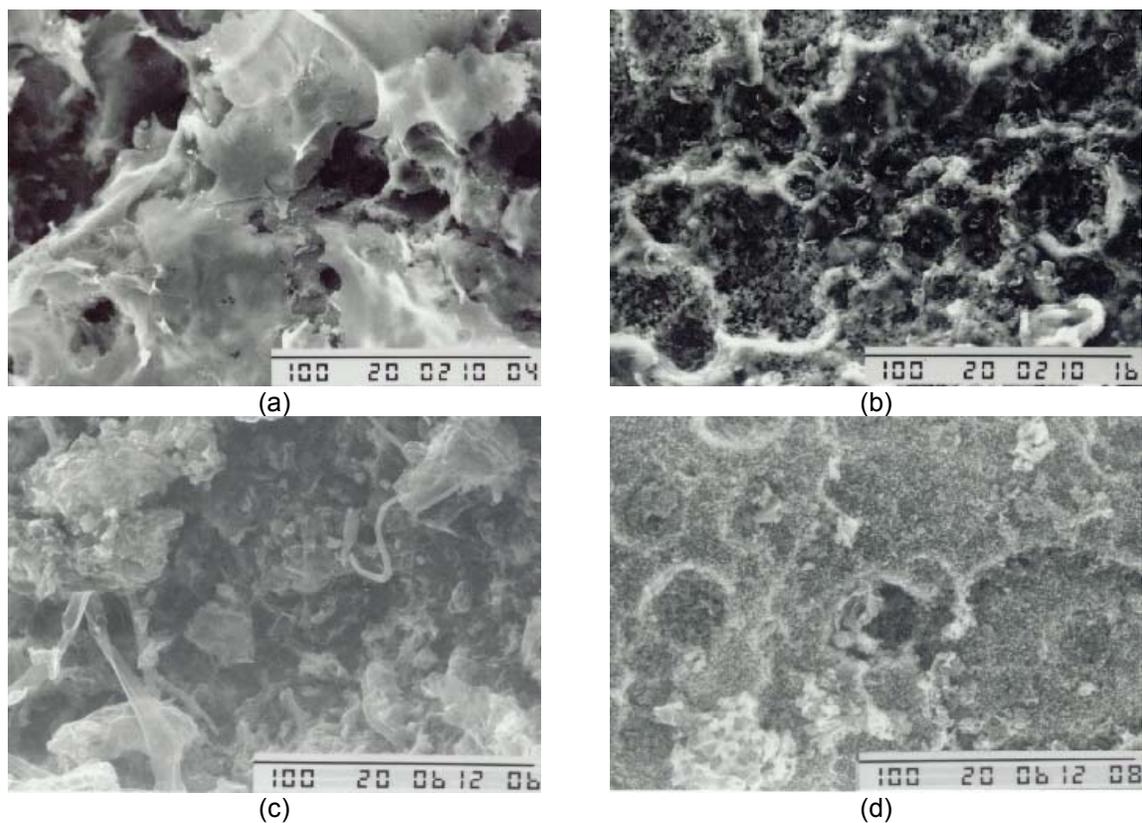


Figura 15: Micrografias obtidas de plataformas de L'vov tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (c); e tratadas com Pd + Mg e usadas na determinação de Cd (b) e Pb (d).

### 3.6. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV

Nesta parte do capítulo serão descritos os equipamentos empregados nas varreduras utilizando a micro sonda de raios-X com radiação síncrotron. Estes experimentos foram executados no LNLS. A energia do elétron dentro do anel de armazenamento é da ordem de 1,37 GeV com um campo de dipolo magnético de 1,65 T. Isso permite uma energia crítica do fóton de 2,08 KeV. A fonte de radiação síncrotron para esta linha utiliza um *bend* magnético DO9B (15°). A linha XRF inclui ainda uma janela de Be com 125 μm para isolar a linha de luz da atmosfera, e um *channel-cut* cristal monocromador. Esta linha inclui um microscópio ótico com focalização motorizada. Este é acoplado a uma câmara CCD para visualizar a amostra e ajudar o operador antes e durante o processo de aquisição de dados. Como mencionado no item 2.3.2. deste capítulo o detector é, também, protegido com filmes de Al.

As plataformas empregadas na determinação de Al, Cd e Pb e tratadas com Zr, Mg e Pd + Mg foram empregadas nas varreduras com a micro sonda de fluorescência de raios-X. Nas varreduras foi empregado um suporte confeccionado em Al, para facilitar a fixação da plataforma durante o processo de radiação. Cada plataforma de L'vov foi mapeada seguindo o mesmo esquema proposto para a obtenção das micrografias no microscópio de varredura eletrônica (ver Figura 13). Neste sentido, foram mapeados 113 pontos por um período de 60 segundos cada, totalizando um tempo de aproximadamente 2 horas para cada plataforma. A distância entre cada ponto foi de aproximadamente 63 μm, ou seja, foram mapeados cerca de 7000 μm (70%) da plataforma. A Figura 16 mostra um esquema das varreduras efetuadas onde a seta indica o ponto final das medidas.

A Figura 17 mostra a disposição da amostra durante as varreduras. O feixe de radiação síncrotron foi colimado empregando-se um capilar de quartzo com abertura aproximada de 30 μm. Este tubo e o detector foram arranjados perpendicularmente (ver Figura 17). Com a ajuda do microscópio ótico acoplado a uma câmara CCD, foi visualizada a plataforma de L'vov por meio de um monitor localizado na estação de controle da linha XRF.

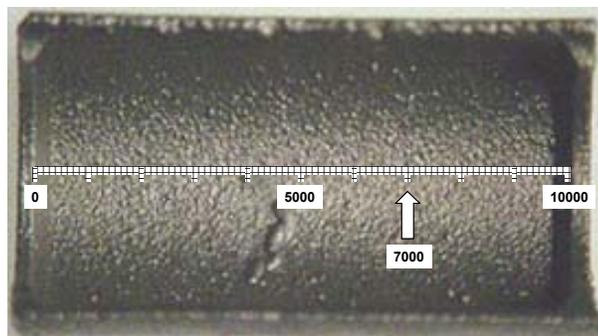


Figura 16: Esquema representando as varreduras efetuadas na linha XRF do LNLS. A seta indica o ponto final das varreduras (7000  $\mu\text{m}$ ).

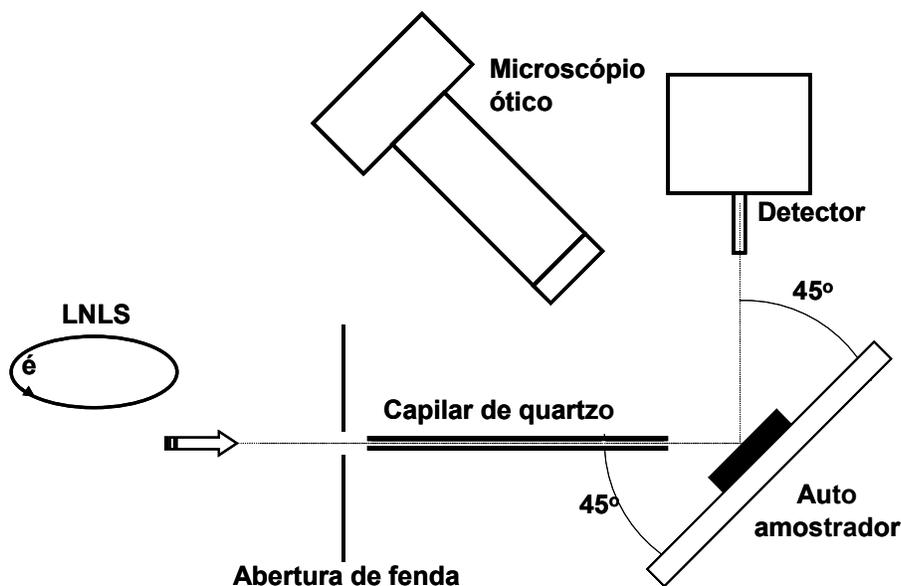


Figura 17: Disposição do tubo de quartzo, microscópio óptico, detector e amostra durante as varreduras das plataformas de L'vov na linha XRF do LNLS.

### 3.7. INVESTIGAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb

Além de se verificar o desempenho do Zr na determinação de Al, Cd e Pb, foi investigado o comportamento deste metal na presença de alguns possíveis concomitantes.

Cálcio, Mg, Na e K (macroconstituintes) e Cu, Fe, Mn e Zn (microconstituintes) foram estudados com o intuito de verificar a existência de possíveis interferências durante a determinação de Cd e Pb.

Para calcular as concentrações de macro e microconstituintes nos testes com concomitantes, observou-se a concentração destes metais nas amostras certificadas mencionadas no início deste capítulo (item 3.3.).

As proporções encontradas entre macroconstituintes e o Cd variaram de 1:109 (Cd:Ca) na amostra de rim de porco a 1:88359 (Cd:K), na amostra de farinha de trigo. Para o Pb estes valores foram de 1:54 (Pb:Mg) e 1:610 (Pb:K) na amostra de folhas de faia. Assim, as concentrações de concomitantes variaram muito. Um planejamento fatorial foi realizado com o intuito de observar possíveis interações entre os concomitantes e executar um número menor de experimentos, porém, sem perder informações relevantes. Este fatorial foi composto por três grupos de experimentos. O primeiro foi configurado por um experimento  $4^2$  (4 variáveis: Ca, Mg, Na e K e dois níveis) com 16 experimentos (concentrações normalizadas em -1 e 1); o segundo grupo foi composto por um fatorial em estrela, onde as concentrações dos concomitantes foram normalizadas em -2 e 2; no terceiro e último grupo, todas as concentrações foram normalizadas em zero (ponto central). Este procedimento foi baseado nos trabalhos de Grotti *et al.* [62,63]. A Tabela 11 mostra os experimentos desenvolvidos e a absorvância integrada foi acompanhada em todos os experimentos.

Nos experimentos descritos na Tabela 11 as concentrações dos concomitantes foram normalizadas entre -2 e 2; neste caso, convencionou-se que -2 equivaleria a uma proporção analito:concomitante igual a 1:100 para o Cd e 1:1 para o Pb, e 2 equivaleria a uma proporção igual a 1:500000 para o Cd e 1:50000 para o Pb. Neste caso, para se abranger uma faixa maior de concentração dos concomitantes, as proporções adotadas no planejamento fatorial obedeceram a uma escala logarítmica (base 10).

No cálculo destas proporções empregou-se a expressão matemática a seguir:

$$10^{\left\{ \log^{x_1} + a \left( \frac{(\log^{x_2} - \log^{x_1})}{b} \right) \right\}}$$

onde  $x_1$  e  $x_2$  são, respectivamente, as menores e maiores proporções entre o analito e o concomitante,  $a$  é o nível do fatorial (-2, -1, 0, +1 e +2) e  $b$  é o número de intervalos entre -2 e 2 (neste caso igual a 4).

Com o auxílio da expressão matemática anteriormente mostrada temos que as proporções utilizadas para o Cd foram iguais a: 1:100 (-2), 1:841 (-1), 1:7071 (0), 1:59460 (+1) e 1:500000 (+2). No caso do Pb as proporções foram: 1:1 (-2), 1:15 (-1), 1:224 (0), 1:3344 (+1) e 1:50000 (+2). As concentrações de Cd e Pb foram fixadas em 4 e 50  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente.

Para os microconstituintes as proporções encontradas ao se levantar as concentrações das amostras certificadas foram iguais a 1:3 (Cd:Mn na amostra de rim de porco) e 1:1 (Pb:Cu na amostra de folhas de faia) e 1:3824 (também referente à Cd:Mn e à amostra de folhas de faia) e 1:80 (Pb:Mn em folhas de faia). No caso dos microconstituintes resolveu-se adotar apenas a proporção 1:5000 para o Cd e 1:2000 para o Pb (Analito:microconstituente). As concentrações de Cd e Pb também foram fixadas em 4 e 50  $\mu\text{g/L}$ . Nos testes com macro e microconstituintes adotou-se o programa de aquecimento descrito no primeiro capítulo (Tabela 5), onde as temperaturas de pirólise e atomização foram iguais a 500 e 1500°C para o Cd e 910 e 1850°C para o Pb.

Tabela 11: Planejamento fatorial empregado nos estudos com concomitantes.

Experimento	Ca	Mg	Na	K	Experimento	Ca	Mg	Na	K	
2 <sup>4</sup>	1	-1	-1	-1	-1	17	-2	0	0	0
	2	1	-1	-1	-1	18	2	0	0	0
	3	-1	1	-1	-1	19	0	-2	0	0
	4	1	1	-1	-1	20	0	2	0	0
	5	-1	-1	1	-1	21	0	0	-2	0
	6	1	-1	1	-1	22	0	0	2	0
	7	-1	1	1	-1	23	0	0	0	-2
	8	1	1	1	-1	24	0	0	0	2
	9	-1	-1	-1	1					
	10	1	-1	-1	1	25	0	0	0	0
	11	-1	1	-1	1	26	0	0	0	0
	12	1	1	-1	1	27	0	0	0	0
	13	-1	-1	1	1	28	0	0	0	0
	14	1	-1	1	1	29	0	0	0	0
	15	-1	1	1	1	30	0	0	0	0
	16	1	1	1	1					

### **3.8. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb NAS AMOSTRAS CERTIFICADAS**

Durante os testes iniciais para a determinação de Cd nas amostras certificadas, o programa de aquecimento adotado foi o mesmo estabelecido no primeiro capítulo (ver Tabela 5). Entretanto, foi necessária a execução de alguns testes para estabelecer as temperaturas de pirólise e atomização mais adequadas para determinação de Cd e Pb nas amostras certificadas. Nestes testes as faixas de temperaturas estudadas não foram tão amplas quanto aquelas mostradas nas otimizações do Capítulo 1. Assim, para o Cd, as temperaturas de pirólise e atomização foram variadas de 200-600 e 1000-1900°C, respectivamente. Na execução dos experimentos de otimização e determinação de Cd nas amostras certificadas, foi empregada uma sonda-ultrasônica e uma única plataforma de L'vov tratada com 500 µg de Zr. No caso do Pb, as temperaturas variaram de 700 a 1000°C para a pirólise e 1800 a 2200°C para a atomização e, foi empregada uma outra plataforma tratada com 500 µg de Zr nas otimizações. A amostra de folhas de faia foi utilizada na otimização destas temperaturas.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. VERIFICAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS: DETERMINAÇÃO DE Al**

Durante as determinações, como mencionado anteriormente, as plataformas de L'vov foram tratadas com 500 µg de Zr a cada 50 ciclos de aquecimento. Este procedimento foi empregado para se evitar problemas com o recobrimento, e devido ao fato de que as temperaturas de pirólise e atomização para o Al são muito altas.

Foram efetuados 5 testes com 50, 100, 150, 200 e 500 ciclos de aquecimento. A plataforma com 50 ciclos foi tratada apenas no início dos testes; a de 100 foi tratada 2 vezes, e as de 150, 200 e 500 ciclos tratadas 3, 4 e 10 vezes, respectivamente. Para efeito de comparação foi empregado o Mg como modificador químico convencional na determinação de Al (ver Tabela 1). Esta plataforma foi utilizada por 500 ciclos de aquecimento. Antes e após cada tratamento, e ao final de

cada 50 ciclos de aquecimento, os fornos eram pesados para verificar a perda ou ganho de massa. Ciclos de aquecimento superiores a 500 não foram testados, pois as condições físicas dos fornos estavam muito comprometidas. A Figura 18 mostra a perda de massa em função do número de ciclos de aquecimento para as plataformas que chegaram a 500 ciclos de aquecimento.

Ao analisar a Figura 18 nota-se que antes e após cada tratamento o ganho de massa foi praticamente nulo. Outro aspecto importante é que à medida que os ciclos de aquecimento aumentavam, a perda de massa tornava-se mais acentuada. A partir dos 400 ciclos de aquecimento a perda de massa foi mais pronunciada do que nos outros intervalos (ver Figura 18), sendo igual a 40 e 60 mg para as plataformas tratadas com Zr e Mg, respectivamente. Outro aspecto relevante foi a queda da estabilidade dos sinais analíticos nos últimos ciclos de aquecimento.

Estes resultados mostram que com o emprego de modificadores químicos permanentes é possível adquirir uma estabilidade analítica maior, pois a condição física da plataforma é mantida por um tempo mais extenso.

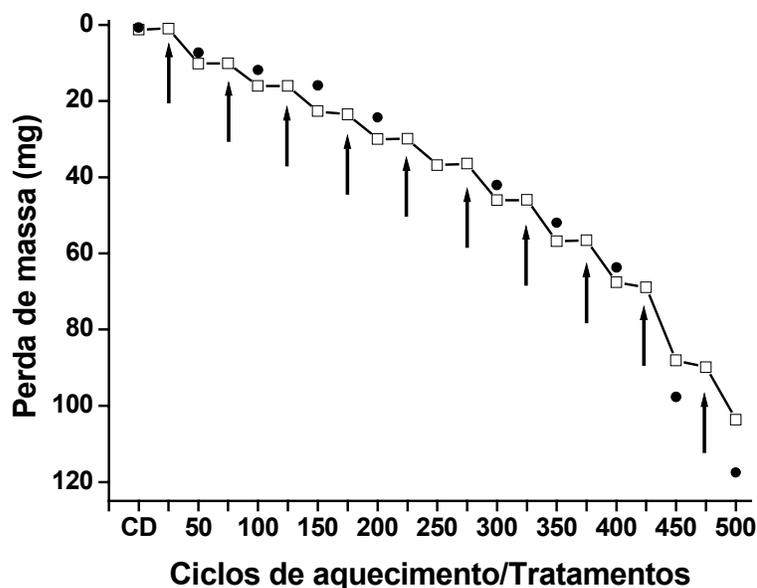


Figura 18: Perda de massa (mg) em função das etapas de trabalho para as plataformas que atingiram 500 ciclos de aquecimento (Zr – quadrados vazios e Mg – círculos cheios), onde CD representa o condicionamento da plataforma, as setas representam os tratamentos com Zr, e os números de 50 a 500 representam os ciclos de aquecimento.

A Figura 19 mostra os resultados obtidos para os experimentos com 500 ciclos de aquecimento com Zr e Mg. A partir desta figura percebe-se que, após aproximadamente 400 ciclos, os resultados começam a apresentar uma maior variação (mesmo efetuando-se novos recobrimentos), e a absorbância integrada diminuiu. A concentração final de Al no leite em pó foi de  $1,2 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$ .

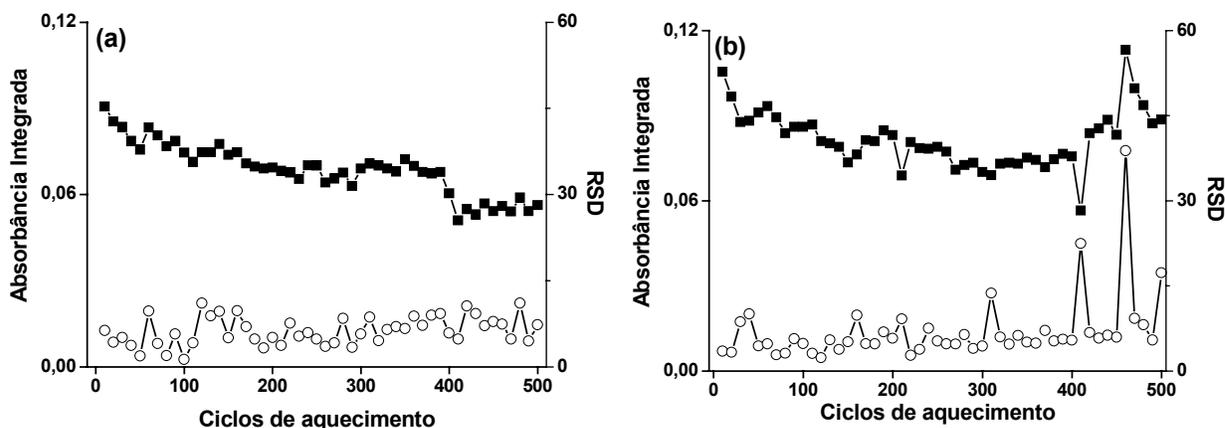


Figura 19: Absorbância integrada (quadrados) para plataformas tratadas com Zr (a) e Mg (b) e utilizadas na determinação de Al em suspensões de leite em pó (concentração de Al na suspensão, aproximadamente, igual a  $12 \mu\text{g/L}$ ). Cada quadrado corresponde à média de 10 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 10 determinações.

Ao se comparar os dados obtidos com o Zr e Mg, pode-se inferir que com o emprego do primeiro modificador foi possível obter uma menor variação dos resultados analíticos, com RSD inferior a 15% (Figura 19a). Assim, com os primeiros 400 ciclos de aquecimento efetuados com o emprego de Zr e Mg foi obtido um RSD de 6 e 10%, respectivamente. Após 400 ciclos de aquecimento, o forno tratado com Mg apresentou sérios problemas de corrosão externa, e verificaram-se absorvâncias integradas variando de 0,08 a 0,22. O RSD para a plataforma tratada com Zr para os últimos 100 ciclos subiu para 10% e para a plataforma tratada com Mg foi para 20% com máximo de até 40% (ver Figura 19b).

## 4.2. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb

Antes de discutir os resultados encontrados para a determinação de Cd e Pb em amostras certificadas de fígado bovino e folhas de faia, serão mostrados os resultados obtidos com a otimização das condições de operação da sonda ultra-

sônica. As variáveis estudadas foram mostradas na Tabela 10. Tratou-se uma plataforma com 500 µg de Zr, e os experimentos referentes ao fatorial  $2^4$  (2 níveis e 4 variáveis) foram processados, sendo empregada uma suspensão de fígado bovino na determinação de Cd. O cálculo dos efeitos foi efetuado de acordo com o item 2.4. do primeiro capítulo, e a Tabela 12 mostra os efeitos principais para as variáveis estudadas.

Com os efeitos mostrados na Tabela 12, verificou-se que as principais variáveis foram a profundidade da sonda (efeito de -21%) e o tempo de espera após atuação da sonda ultra-sônica (-17%). Para ambas variáveis os efeitos foram negativos, ou seja, para se obter um sinal analítico maior (absorbância integrada) deveria reduzir a profundidade da sonda e o tempo de espera. Entretanto, isto não foi possível, pois em profundidades menores que 70 %, a sonda ultra-sônica se posicionava praticamente fora do copo do auto-amostrador, e o tempo mínimo de espera que se pode introduzir no programa de operação é de 1s. As demais variáveis apresentaram efeitos muito próximos ou menores que o erro calculado. Assim, os valores empregados para as variáveis foram iguais a 70%, 100 %, 5 s e 1 s, para a profundidade da sonda, intensidade, tempos de atuação da sonda ultra-sônica e espera, respectivamente. Neste processo de otimização foram efetuados 300 ciclos de aquecimento.

Tabela 12: Resultados para os efeitos das variáveis estudadas na otimização das condições da sonda ultra-sônica.

Variáveis	Efeito calculado
Profundidade da sonda (%)	-21 ± 8
Intensidade (%)	10 ± 8
Tempo de sonicação (s)	2 ± 8
Tempo de espera após sonicação (s)	-17 ± 8

Desta forma, com a mesma plataforma empregada no processo de otimização, foram efetuados mais 800 ciclos de aquecimento na determinação de Cd em suspensões da amostra certificada de fígado bovino. Foram totalizados 1100 ciclos de aquecimento sem que houvesse ou queda em sensibilidade ou uma nova calibração e sem um novo recobrimento com Zr. A Figura 20a mostra os resultados obtidos para uma das suspensões de fígado bovino.

Para esta plataforma, também foi acompanhada, periodicamente, a perda de massa do tubo. Este teste confirma os resultados já encontrados anteriormente para o Al, onde a perda de massa é mais pronunciada após um número maior de ciclos de aquecimento. Além disso, notou-se, como esperado, um grande efeito do programa de temperatura sobre o forno de grafite pois, na determinação de Al (1400 e 2400°C para pirólise e atomização, respectivamente), houve uma perda de massa aproximadamente igual a 100 mg após 450 ciclos de aquecimento. No caso do Cd (500 e 1500°C para pirólise e atomização, respectivamente) esta mesma perda ocorreu apenas após 900 ciclos de aquecimento.

Além dos testes com o Zr, foram efetuados alguns testes com a mistura Pd + Mg como modificador químico convencional. Nestes testes, ocorreu uma variação de resultados superior à encontrada para o Zr, e após aproximadamente 200 ciclos de aquecimento foi necessário efetuar uma nova calibração. A Figura 20b mostra os resultados encontrados com o uso da mistura Pd + Mg. Os dados mostrados na Figura 20 referem-se a apenas uma suspensão de fígado bovino. Nas demais determinações com a plataforma tratada com Zr foram empregadas diferentes massas no preparo das suspensões. Portanto, as absorvâncias integradas foram muito diferentes, tornando inviável a apresentação de todos os dados em um único gráfico. A Figura 20 mostra, também, o RSD (círculos vazios) para cada 5 determinações de Cd em suspensão de Fígado bovino.

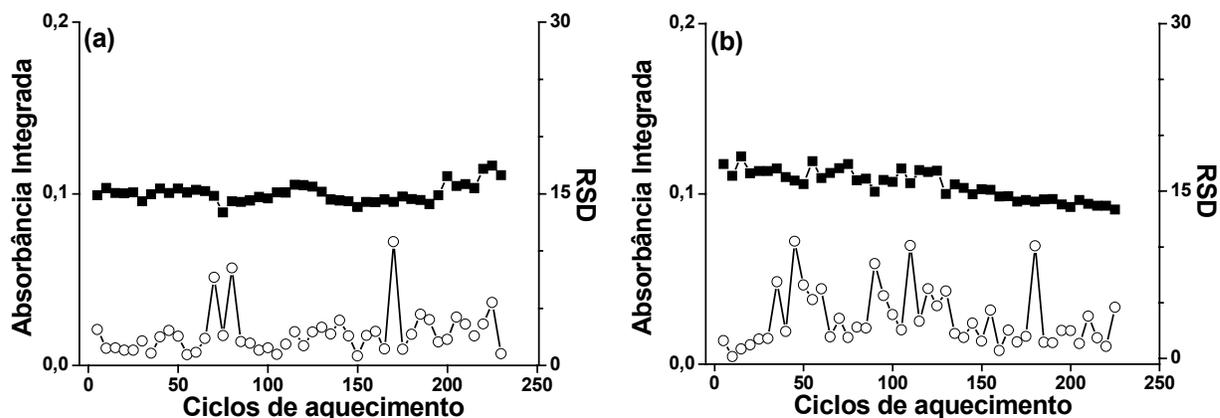


Figura 20: Resultados obtidos na determinação de Cd (concentração de Cd na suspensão, aproximadamente, igual a 2  $\mu\text{g/L}$ ) em uma suspensão de fígado bovino. Em (a) temos as determinações efetuadas com o Zr e em (b) com a mistura Pd + Mg. Cada quadrado corresponde à média de 5 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 5 determinações.

Para o Pb foram realizados cerca de 800 ciclos de aquecimento com uma plataforma tratada apenas uma vez com Zr. Além do Zr, foi empregada a mistura Pd + Mg para comparar os resultados (Tabela 1). Com a plataforma tratada de modo convencional atingiu-se até 416 ciclos de aquecimento. Em ambos os casos os experimentos foram finalizados porque as condições físicas dos fornos impediam o seu prosseguimento. A Figura 21 mostra a variação da absorbância integrada em função do número de ciclos de aquecimento para o Zr (Figura 21a) e Pd + Mg (Figura 21b). No caso do Pb as diferenças entre o modificador permanente e o convencional foram marcantes. Com o Zr foi executado, praticamente, o dobro do número de ciclos de aquecimento que para o Pd + Mg. No caso do Pb também foram utilizadas diversas suspensões com massas diferentes, e na Figura 21 são mostrados os resultados (absorbância integrada e RSD para 5 determinações) para apenas uma das suspensões.

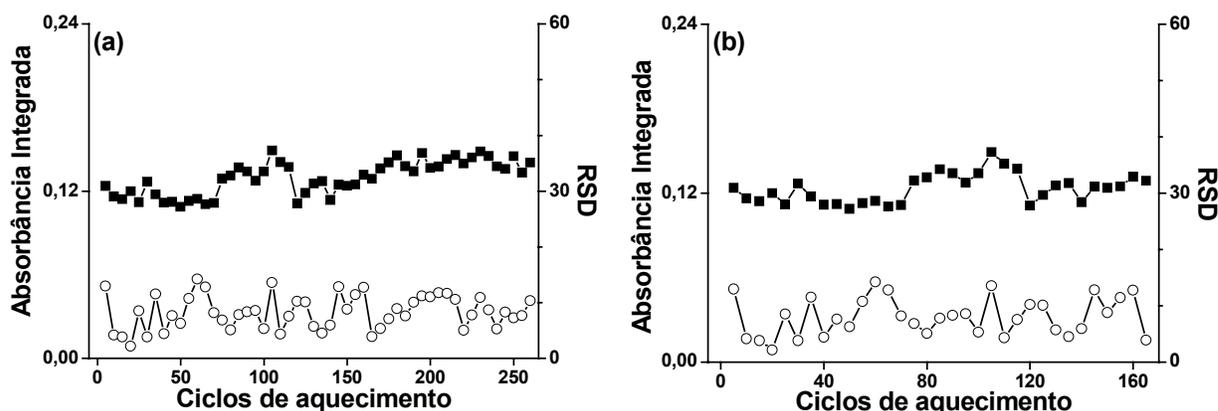


Figura 21: Resultados obtidos na determinação de Pb (concentração de Pb na suspensão, aproximadamente, igual a 65  $\mu\text{g/L}$ ) em uma suspensão de folhas de faia. Em (a) temos as determinações efetuadas com o Zr e, em (b), com a mistura Pd + Mg. Cada quadrado corresponde à média de 5 determinações sucessivas e os círculos correspondem ao RSD de 5 determinações.

#### 4.3. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV – DETERMINAÇÃO DE AI

Nas varreduras com micro sonda de fluorescência de raios-X, foram estudadas duas plataformas novas, sendo que uma delas foi tratada com 500  $\mu\text{g}$  de Zr e a outra foi apenas condicionada, seguindo instruções do fabricante do aparelho. Conforme esperado, a plataforma nova e apenas condicionada não apresentou nenhum

elemento em sua superfície. Já na plataforma tratada com Zr (500  $\mu\text{g}$ ) apenas este metal foi encontrado. A Figura 22 mostra um espectro de fluorescência de raios-X, obtido em determinado ponto da plataforma nova e tratada com Zr, e a Figura 23 mostra o resultado geral de sua varredura. Na Figura 22 percebe-se a presença de Ar (2,96 KeV) proveniente do ar atmosférico, e o Zr (15,77 KeV) proveniente do tratamento.

A Figura 14b apresentada no início deste capítulo sugere uma distribuição homogênea do modificador na plataforma. Entretanto, ao se observar a Figura 23 pode-se constatar que o tratamento não implicou em tal distribuição homogênea, embora esta característica não tenha implicado em qualquer problema durante as determinações de Al em leite em pó.

A Figura 24 mostra os resultados das varreduras efetuadas nas plataformas com 50, 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento e utilizadas na determinação de Al em leite em pó.

Com uma análise da Figura 24a (50 ciclos) percebe-se que houve uma diminuição do sinal de Zr ao se comparar com a plataforma nova (Figura 23). Nas plataformas com 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento, verificou-se uma certa estabilização no sinal de Zr. Este fato pode ser explicado devido aos sucessivos tratamentos com 500  $\mu\text{g}$  de Zr a cada 50 ciclos de aquecimento.

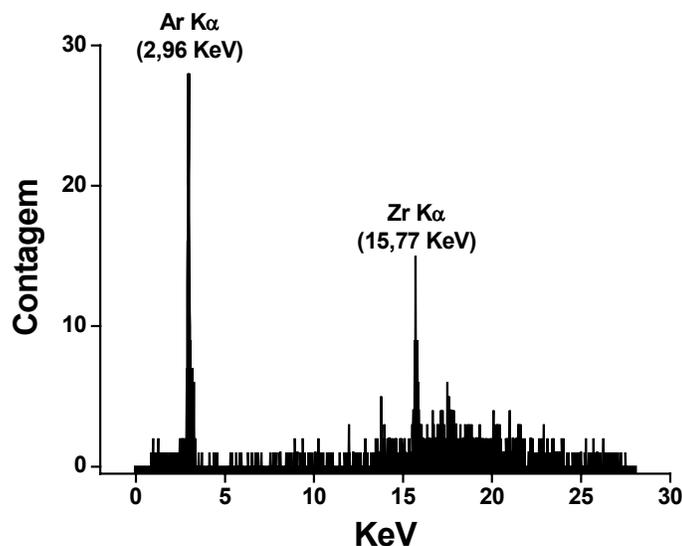


Figura 22: Espectro de fluorescência de raios-X obtido para a plataforma nova e tratada com 500  $\mu\text{g}$  de Zr. Em destaque temos os sinais para as linhas K $\alpha$  do Ar (2,96 KeV) e Zr (15,77 KeV).

Conforme pode ser visto na Figura 25 a plataforma com 500 ciclos de aquecimento apresentou dois pontos com altos sinais para o Zr. Estes pontos correspondem às extremidades da região onde a amostra foi depositada (4 e 7 mm). Nota-se ainda a formação de uma estrutura circular, originada pelas sucessivas deposições da suspensão de leite em pó. Deve-se ressaltar que as extremidades desta estrutura correspondem aos dois picos de Zr apresentados na varredura (ver Figura 25). A Figura 26 mostra a sobreposição destes dados com a imagem da plataforma.

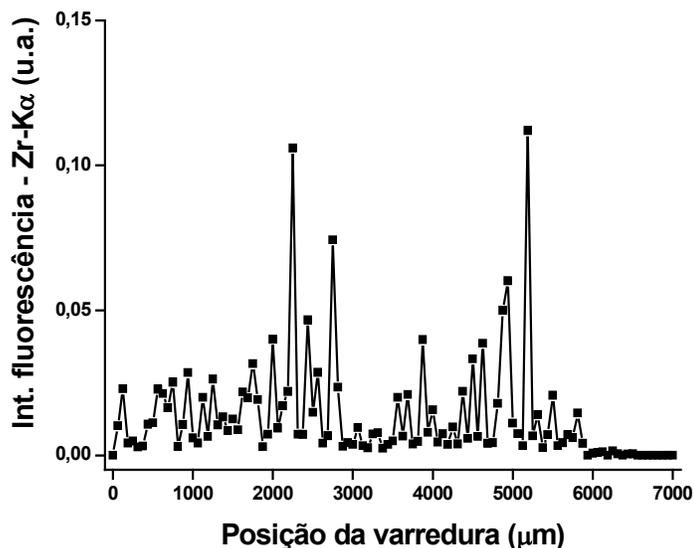


Figura 23: Resultado da varredura da plataforma nova e tratada com 500  $\mu\text{g}$  de Zr.

As plataformas com 50, 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento também apresentaram a formação desta estrutura circular, entretanto não foi verificada a concentração de Zr nas extremidades deste círculo, como mostrou a Figura 24. Deve-se destacar o fato de que o Zr no interior desta estrutura circular (ver Figuras 25 e 26) apresentou baixos sinais (da ordem de 0,05). Esta observação mostra que a parte central desta estrutura (provável local de deposição da amostra) apresenta algumas particularidades.

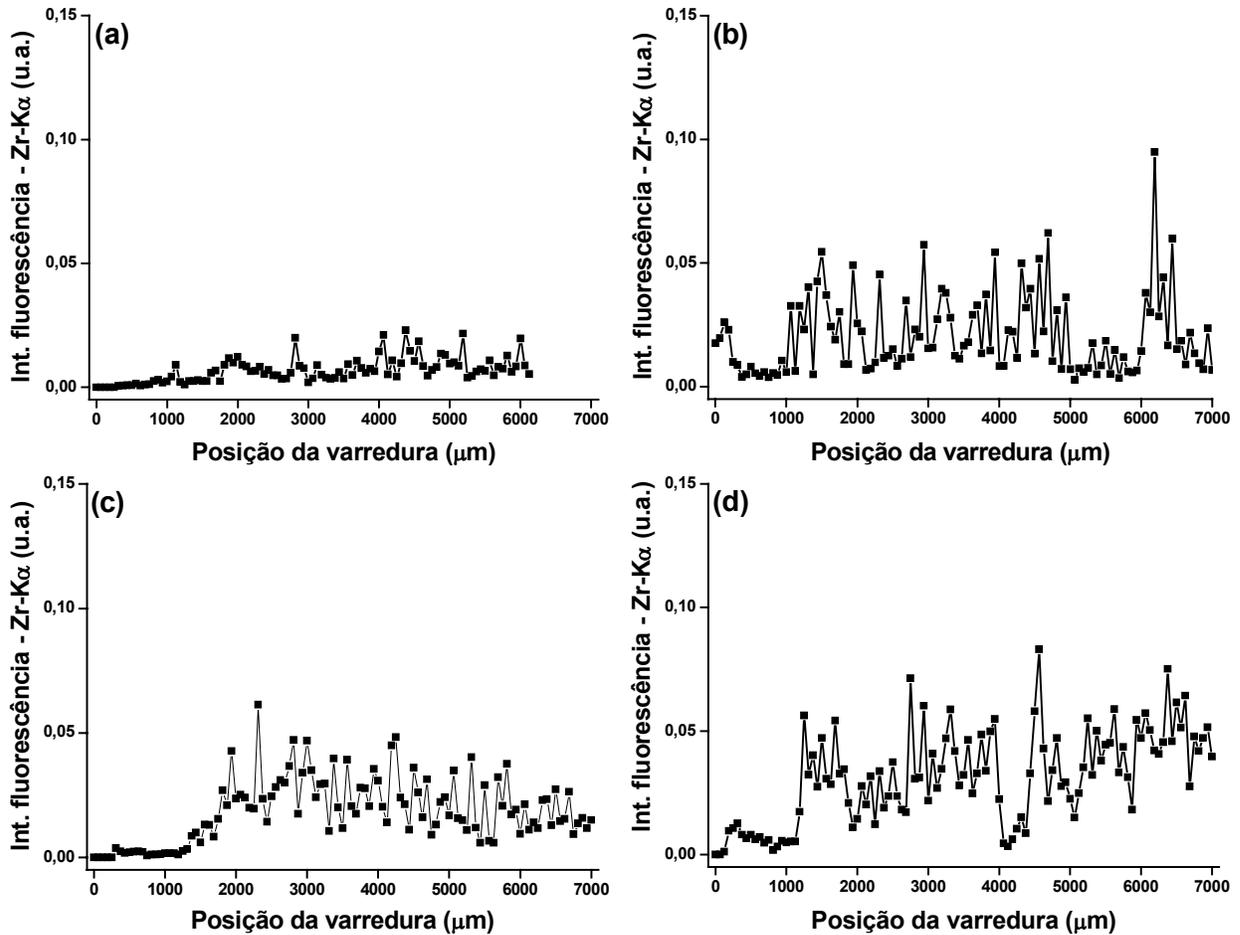


Figura 24: Resultados das varreduras para as plataformas com 50 (a), 100 (b), 150 (c) e 200 (d) ciclos de aquecimento e tratadas com Zr para determinação de Al em leite em pó.

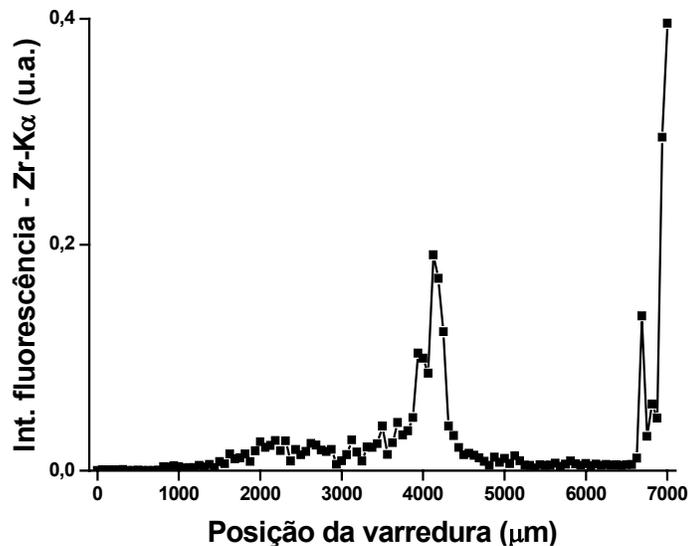


Figura 25: Resultado da varredura para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento e utilizada na determinação de Al em leite em pó.

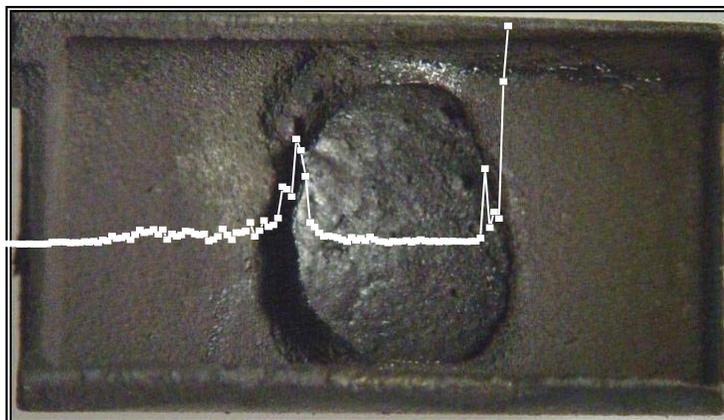


Figura 26: Sobreposição da imagem da plataforma tratada com Zr e com 500 ciclos de aquecimento com o resultado da varredura (Figura 25).

Outro fator importante observado nas varreduras foi a presença de Hf e Ti na plataforma tratada com Zr e com 500 ciclos de aquecimento, onde ambos apresentaram o mesmo perfil de distribuição do Zr. A Figura 27 mostra os resultados das varreduras para Hf e Ti. O Hf está presente na composição do sal de Zr a uma concentração de aproximadamente 4% m/m. Já o Ti pode ser proveniente de alguma contaminação durante o processo de fabricação deste mesmo sal. Estes dois metais não apresentaram nenhum efeito negativo na determinação de Al, sendo que ambos já foram reportados na literatura como modificadores químicos permanentes [64,65].

A plataforma tratada de forma convencional com Mg, e utilizada por 500 ciclos de aquecimento, apresentou sinal analítico para o Ca. Portanto, o Mg não foi totalmente eficiente na remoção deste possível concomitante. Este elemento, provavelmente, foi proveniente das amostras de leite em pó. Este mesmo Ca pode ser responsável por uma série de problemas na determinação de Al. Alguns desses problemas já foram reportados na literatura e estão relacionados à obtenção de dados inconsistentes entre resultados obtidos por curva de calibração e método de adição de padrão [66], e problemas relacionados com efeitos memória [67].

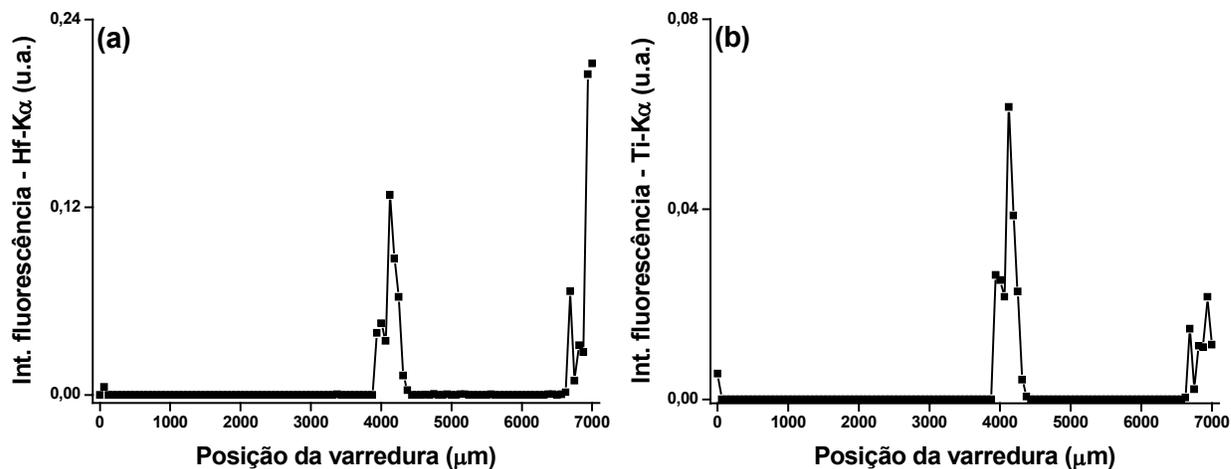


Figura 27: Resultados das varreduras de Hf (a) e Ti (b), para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada com Zr e utilizada na determinação de Al em leite em pó.

A Figura 28 mostra os resultados da varredura de Ca na plataforma tratada com Mg, com 500 ciclos de aquecimento e empregada na determinação de Al em leite em pó.

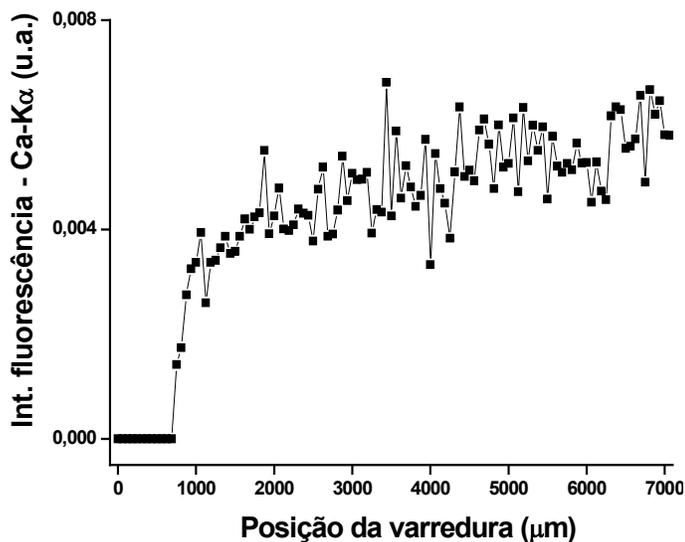


Figura 28: Resultado da varredura de Ca para a plataforma com 500 ciclos de aquecimento, tratada de maneira convencional com Mg e utilizada na determinação de Al em leite em pó.

#### **4.4. MAPEAMENTO DAS PLATAFORMAS DE L'VOV – DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb**

Nas varreduras efetuadas com plataformas empregadas na determinação de Cd (Fígado bovino) e Pb (folhas de faia), utilizou-se o mesmo procedimento adotado nas plataformas utilizadas na determinação de Al. As plataformas tratadas com Pd + Mg foram utilizadas por 200 e 416 ciclos de aquecimento na determinação de Cd e Pb, respectivamente. Durante as varreduras, foram detectados Ca, Fe, P, S e Ti. A Figura 29 mostra os resultados encontrados para a plataforma utilizada na determinação de Cd.

O Pd também foi detectado, porém, a quantidade encontrada não foi suficiente para estabilizar o sinal do Cd, após 200 ciclos de aquecimento. A Figura 30 mostra o resultado da varredura para o Pd nas plataformas utilizadas nas determinações de Cd (Figura 30a) e Pb (Figura 30b).

A plataforma tratada com 500  $\mu\text{g}$  de Zr e com 1100 ciclos de aquecimento (determinação de Cd) apresentou baixíssimos sinais analíticos para Ca, Fe e P, e não apresentou sinais analíticos para o S. Na plataforma utilizada para a determinação de Pb e tratada com Zr foram encontrados Ca, Ti e Zr. A Figura 31 mostra os resultados das varreduras para o Ca nas plataformas tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b).

Um ponto positivo observado para as plataformas tratadas com Zr e com Pd + Mg foi o fato de que não foi encontrado Cd e Pb em nenhuma delas. Esta observação evidencia que não houve problemas com efeitos memória e que o programa de aquecimento adotado foi adequado para as determinações.

Na plataforma tratada com Zr, e empregada na determinação de Cd por 1100 ciclos de aquecimento, o Zr foi detectado ao longo de toda a plataforma, como mostra a Figura 32a. No caso do Pb os sinais do Zr foram extremamente baixos e em apenas dois pontos (ver Figura 32b).

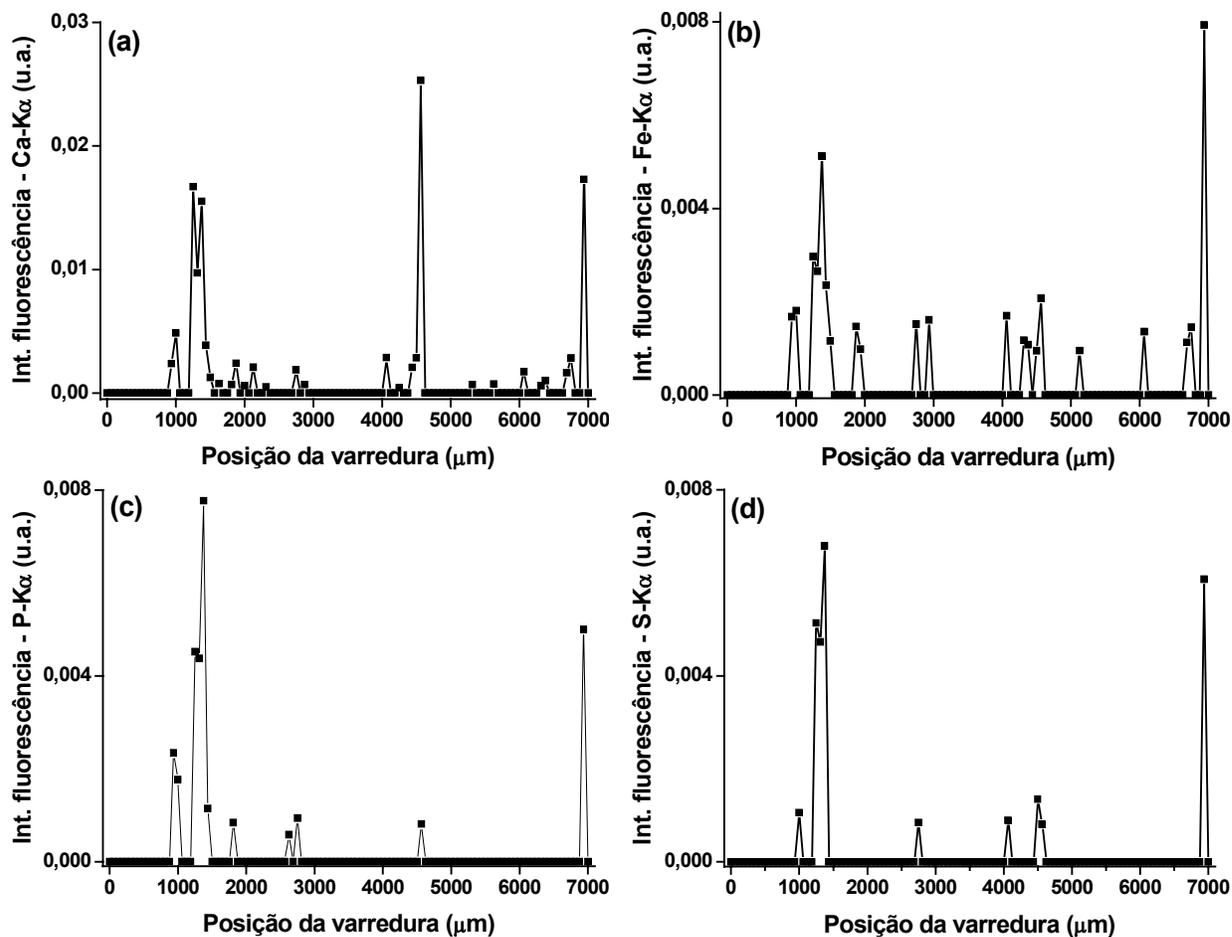


Figura 29: Resultados das varreduras de Ca (a), Fe (b), P (c) e S(d) para a plataforma tratada com Pd e Mg e utilizada na determinação de Cd em Fígado bovino.

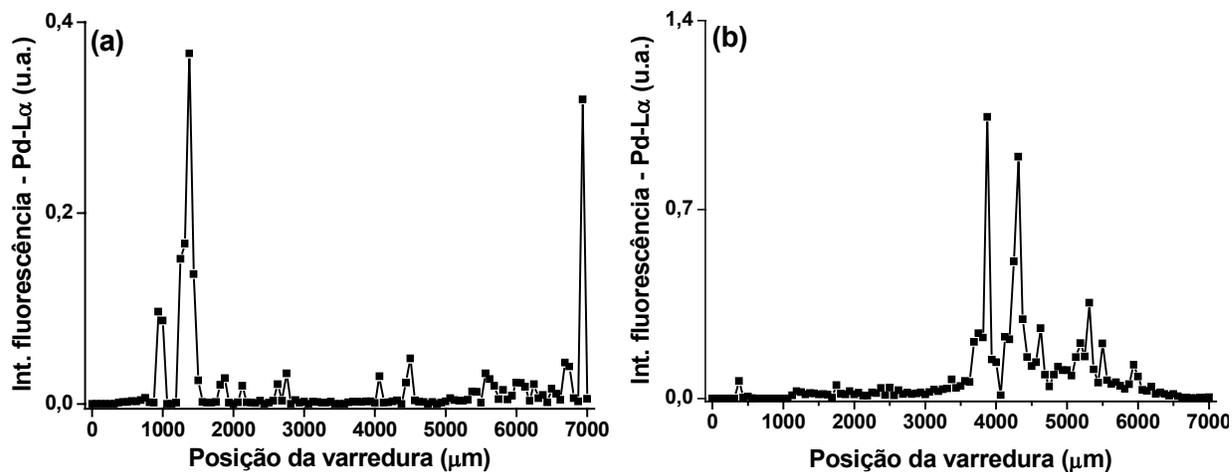


Figura 30: Resultado da varredura de Pd para as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b).

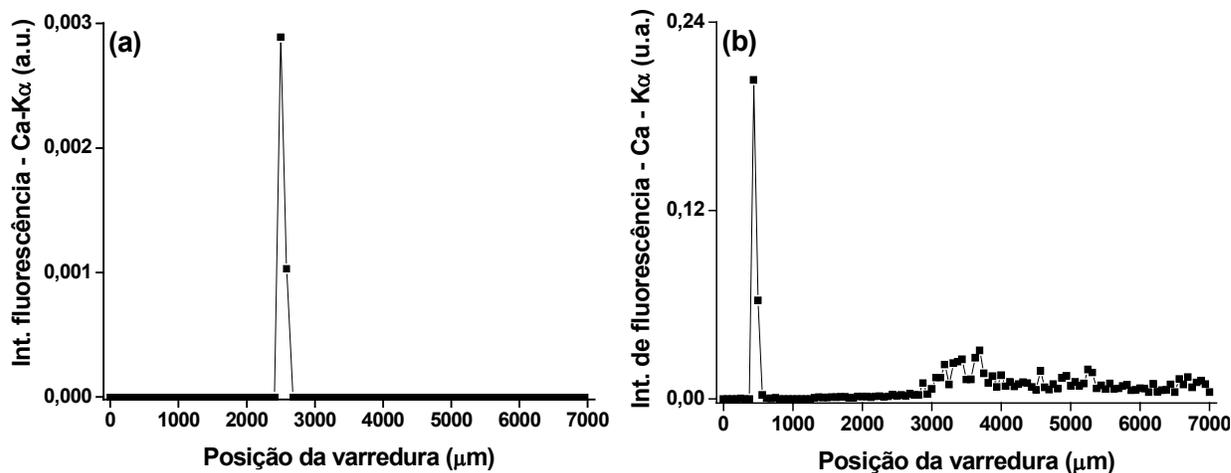


Figura 31: Resultado da varredura de Ca para as plataformas tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b).

Novamente, assim como nas plataformas utilizadas na determinação de Al foi detectada a presença de Hf e Ti, estes foram também detectados na plataforma utilizada na determinação de Cd. Entretanto, neste caso, estes dois metais não apresentaram a mesma distribuição mostrada pelo Zr. Este comportamento sugere que o Hf e Ti migraram de uma determinada posição, concentrando-se em uma outra. A Figura 33 mostra os resultados das varreduras para o Hf e Ti. Para o Pb foi encontrado apenas Ti com um sinal 400 vezes maior que o Zr. A Figura 34 mostra a distribuição do Ti ao longo da plataforma. Este comportamento sugere que, de alguma forma, o Zr foi eliminado (certamente tenha atuado de maneira efetiva na determinação de Pb) e o Ti atuou como modificador químico. Entretanto, os mecanismos desta troca ainda não estão claros.

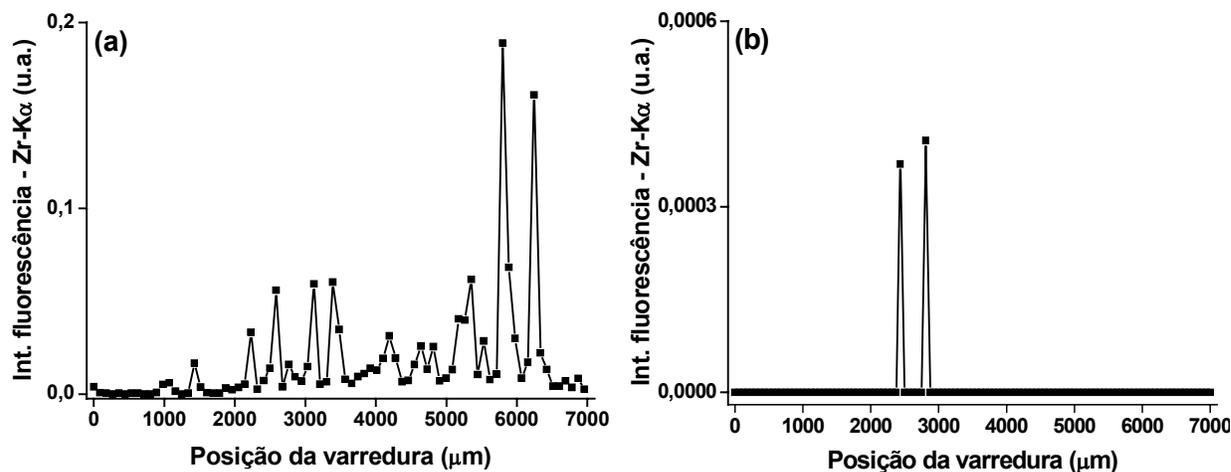


Figura 32: Resultado da varredura de Zr para as plataformas tratadas com este metal e utilizadas na determinação de Cd (a) e Pb (b).

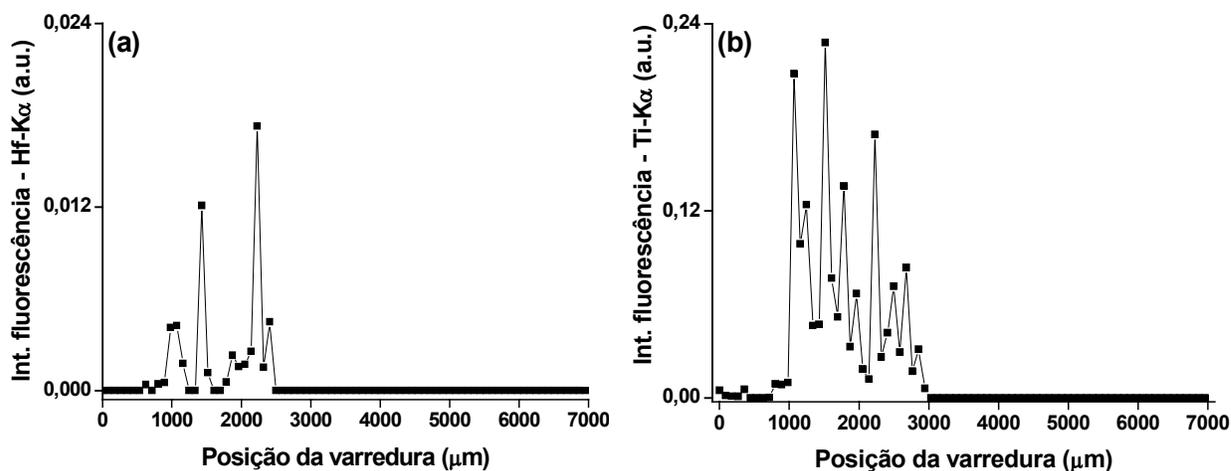


Figura 33: Resultado da varredura de Hf (a) e Ti (b) para a plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Cd em fígado bovino.

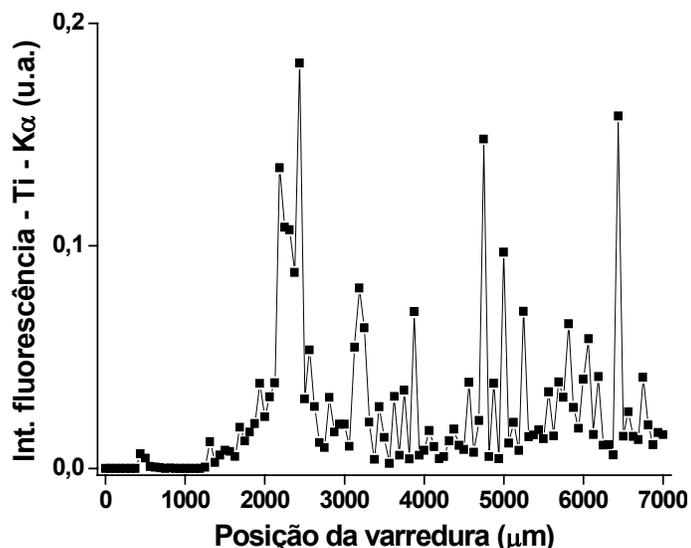


Figura 34: Resultado da varredura de Ti para a plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Pb em folhas de faia.

#### 4.5. ESTUDO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd E Pb

Após o cálculo dos coeficientes e seus respectivos erros verificou-se que, para a faixa de concentração estudada, os concomitantes (ver planejamento fatorial Tabela 11) não apresentaram nenhum efeito positivo ou negativo, sinérgico ou antagônico na determinação de Cd e Pb. A Figura 35 mostra a variação do sinal analítico (absorbância integrada) na determinação de Cd e Pb na presença de diferentes concentrações de concomitantes. Nestes testes empregou-se uma

solução padrão de Cd a 4  $\mu\text{g/L}$ . Esta solução, na ausência de concomitantes, apresentou uma absorvância integrada média de 0,25. Observando-se a Figura 35a percebe-se que, mesmo quando as concentrações dos concomitantes foram as maiores, a absorvância integrada apresentou apenas pequenas variações (aproximadamente 10%). As linhas tracejadas representam a absorvância integrada média  $\pm 10\%$ .

Para o Pb o mesmo comportamento foi observado, e apenas o Mg apresentou um aumento de sinal de aproximadamente 15% (ver Figura 35b). A concentração de Pb foi fixada em 50  $\mu\text{g/L}$  com uma absorvância integrada média de 0,17. Novamente, as linhas tracejadas representam a absorvância integrada média  $\pm 10\%$ .

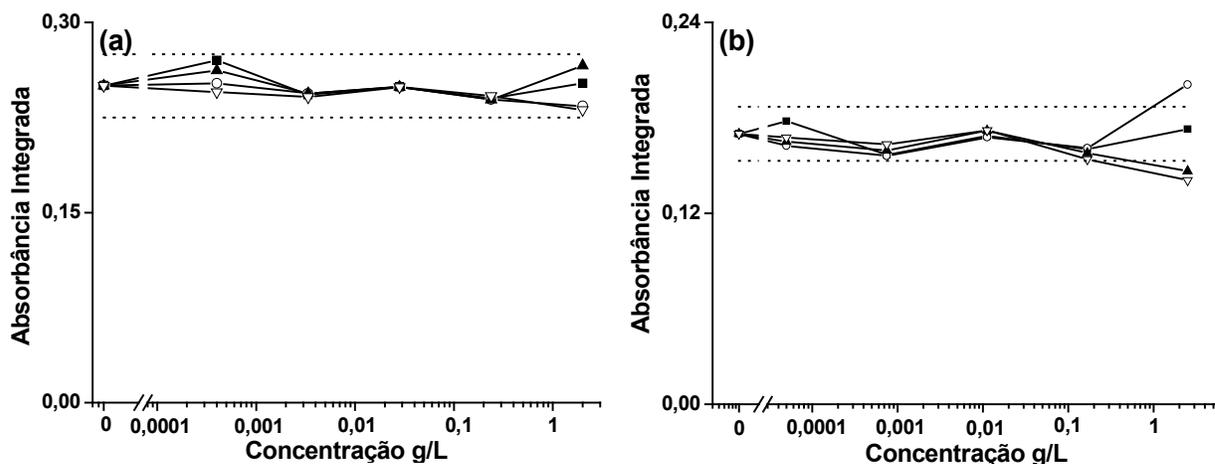


Figura 35: Variação da absorvância integrada na determinação de Cd – 4  $\mu\text{g/L}$  (a) e Pb – 50  $\mu\text{g/L}$  (b) tendo o Ca (quadrados cheios), K (triângulos vazios e invertidos), Mg (círculos vazios) e Na (triângulos cheios) como possíveis concomitantes. As linhas tracejadas representam as médias das absorvâncias integradas (Cd – 0,25 e Pb – 0,17)  $\pm 10\%$ .

Deve-se ressaltar que estes testes foram efetuados com Zr como modificador químico permanente. Desta forma, este modificador apresentou a propriedade de suportar situações adversas, como apresentadas neste teste. Além disso, as concentrações dos concomitantes testados são muito superiores aos valores encontrados nas amostras certificadas (ver item 3.7. deste capítulo). Pode-se concluir que os testes com macroconstituintes foram efetuados com uma larga margem de segurança.

Os testes com microconstituintes não apresentaram nenhuma variação positiva ou negativa quando o Cd foi determinado na presença de Cu, Fe e Mn (proporção Cd:microconstituente igual a 1:5000). Entretanto, o Zn apresentou uma interferência positiva de 30% quando a proporção 1:5000 foi empregada (concentração de Zn igual a 0,020 g/L). Desta forma, proporções menores foram empregadas e a concentração limite de Zn na determinação de Cd foi igual a 0,010 g/L (proporção de 1:2500). A máxima proporção entre Cd e Zn nas amostras certificadas foi igual a 1:792 na amostra de farinha integral. Desta forma, os testes com Zn ainda estão em uma margem muito segura. No caso do Pb não foram observados quaisquer aumentos ou quedas no sinal analítico quando a proporção 1:2000 foi utilizada.

#### **4.6. DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb EM AMOSTRAS CERTIFICADAS**

Como já comentado no item 3.8., antes da execução das determinações de Cd e Pb nas amostras certificadas, foram executados alguns testes para averiguar as temperaturas de pirólise e atomização mais adequadas na determinação destes metais. A Figura 36 mostra a otimização das temperaturas de pirólise para o Cd e o Pb.

A partir do gráfico da Figura 36, percebe-se que as temperaturas de pirólise mais favoráveis (linhas tracejadas) para determinação de Cd e Pb são 400 e 700°C, respectivamente. No caso do Cd, ao se aumentar a temperatura de pirólise para 500 ou 600°C, observa-se uma queda acentuada (aproximadamente 50%) da absorbância integrada para todas as amostras certificadas estudadas. Para o Pb, a absorbância integrada para uma suspensão de folhas de faia (f) apresentou uma queda de 60% quando a temperatura de pirólise foi aumentada de 700 para 800°C. As temperaturas de atomização foram fixadas em 1400 e 2000°C para o Cd e o Pb, respectivamente.

Além das determinações diretas em suspensões, as amostras certificadas foram mineralizadas em forno de microondas tipo cavidade. Nestas mineralizações foram utilizados 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado + 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e massas de 30 (rim de porco) a 300 mg (farinha integral). O programa de aquecimento contou com 3 etapas:

a primeira, com potência de 300W por 3 min; a segunda, com uma potência de 790W por 7 min e a última, com potência igual a zero por 5 min. Após a mineralização, os frascos de Teflon foram colocados em uma chapa aquecedora (60 a 70°C) para eliminação do excesso de HNO<sub>3</sub> e, os volumes foram ajustados com HNO<sub>3</sub> 0,2% v/v para 10 mL.

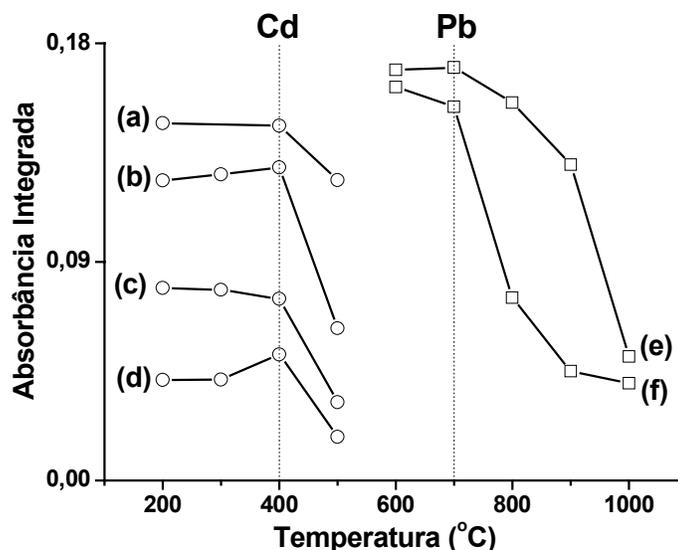


Figura 36: Estudo das temperaturas de pirólise na determinação de Cd (círculos) em uma solução de Cd 2 µg/L (a), suspensões de fígado bovino (b), folhas de faia (c) e farinha integral (d). No caso do Pb (quadrados) temos uma solução de Pb 50 µg/L (e) e uma suspensão de folhas de faia (f). Em todos os casos foram empregadas plataformas tratadas de forma permanente com Zr.

A Tabela 13 mostra as concentrações de Cd e Pb encontradas nas amostras na forma de suspensões e mineralizadas, assim como as concentrações certificadas.

Aos valores mostrados na Tabela 13, foi aplicado um teste-*t* não pareado, comparando-se os valores certificados e encontrados com as suspensões, e nenhuma diferença ao nível de 95% do intervalo de confiança foi detectada. Para comparar os resultados obtidos com as suspensões e as mineralizações empregou-se um teste *t* pareado e, novamente, não foi detectada nenhuma diferença significativa ao nível de 95% do intervalo de confiança.

A reprodutibilidade ( $n = 5$ ) variou de 7 (determinação de Cd em rim de porco) a 13% (determinação de Pb em folhas de faia) para as amostras na forma de suspensão, e a repetibilidade ( $n = 10$ ) foi de aproximadamente 4%. Os limites ( $n=50$ ) de detecção e quantificação ( $n = 50$ ) foram, respectivamente, iguais a 0,2 e 0,5 µg/L

para o Cd (curva de calibração de 2 a 10  $\mu\text{g/L}$ ) e 2 e 7  $\mu\text{g/L}$  para o Pb (curva de calibração de 25 a 100  $\mu\text{g/L}$ ). Estes limites foram calculados segundo normas da IUPAC [68].

Tabela 13: Concentrações de Cd e Pb ( $\mu\text{g/g}$ ) em amostras certificadas e resultados encontrados nas amostras certificadas na forma de suspensão e mineralizadas (n = 5 para todas as suspensões e igual a 3 para as mineralizações).

Amostras	Certificado	Suspensão	Mineralização
Farinha integral (CRM 189)	71 $\pm$ 3	67 $\pm$ 7	70 $\pm$ 6
Folhas de feijão (CRM 100)	Cd: 340*	315 $\pm$ 29	329 $\pm$ 15
	Pb: 16300*	15000 $\pm$ 1900	16000 $\pm$ 560
Fígado bovino (1577b)	500 $\pm$ 30	493 $\pm$ 65	560 $\pm$ 57
Rim de porco (CRM 186)	2710 $\pm$ 150	2700 $\pm$ 200	2800 $\pm$ 500

\*Valores de referência

## 5. CONCLUSÃO PARCIAL

Neste segundo capítulo, foram mostradas as potencialidades da micro sonda de fluorescência de raios-X no estudo da distribuição de metais na superfície de plataformas gráficas tratadas com Zr e Pd + Mg.

Ao se empregar a  $\mu\text{SRXRF}$ , verificou-se que a distribuição do modificador nas plataformas de L'vov não foi homogênea; entretanto, mesmo nesta condição, foram obtidos resultados com boa qualidade analítica. Ainda, utilizando a  $\mu\text{SRXRF}$ , notou-se a migração/deslocamento de Zr para determinadas partes da plataforma. Neste segundo capítulo, ficou evidente a extensão da preservação das plataformas de grafite causada pelo Zr. Além disso, tornaram-se demonstradas as vantagens dos modificadores químicos permanentes em ETAAS, após a constatação do aumento da durabilidade dos fornos de grafite e obtenção de resultados precisos e exatos. Outros pontos positivos foram relacionados com a boa concordância entre as concentrações certificadas e as encontradas nas amostras na forma de suspensões.

Nos intervalos estudados, as melhores condições de determinação de Al, Cd e Pb em amostras biológicas na forma de suspensão foram obtidas ao se utilizar  $\text{HNO}_3$  0,2 % (v/v), tamanho de partícula variando de 75 a 150  $\mu\text{m}$  e banho de ultra-som por cerca de 15 min. No caso do Al, as temperaturas de pirólise e atomização foram de

1100 e 2400°C, respectivamente. Para Cd e Pb foi necessário efetuar uma rápida otimização destas temperaturas onde os valores ideais foram iguais a 400 e 1400°C (Cd) e 700 e 2000°C (Pb). Além disso, para estes dois metais empregou-se uma sonda de ultra-som por 5 s a uma potência de 7W.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] Browner, R. F.; Boorn, A. W., *Anal. Chem.*, 1984, **56**, 875A.
- [2] Hoenig, M; Kersabiec, A-M., *Spectrochim. Acta Part B*, 1996, **51**, 1297.
- [3] Bendicho, C.; Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 353.
- [4] Stephen, S. C.; Littlejohn, D., Ottaway, J. M., *Analyst*, 1985, **110**, 1147.
- [5] Brady, D. V.; Montalvo, J. G.; Glowacki, G.; Pisciotta, A., *Anal. Chim. Acta*, 1974, **70**, 448.
- [6] Hinds, M. W.; Jackson, K. W.; Newman, A. P., *Analyst*, 1985, **110**, 947.
- [7] Epstein, M. S.; Carnrick, G. R.; Slavin, W.; Miller-Ihli, N. J., *Anal. Chem.*, 1989, **61**, 1414.
- [8] Miller-Ihli, N. J., *Spectrochim. Acta Part B*, 1989, **44**, 1221.
- [9] Miller-Ihli, N. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 295.
- [10] Miller-Ihli, N. J., *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 964A.
- [11] Henglein, A., *Ultrasonics*, 1987, **25**, 6.
- [12] Gomez-Ariza, J. L.; Morales, E.; Beltran, R.; Giraldez, I.; Ruiz-Benitez, M., *Analyst*, 1995, **120**, 1171.
- [13] Pino, V.; Ayala, J. H.; Afonso, A. M.; Gonzalez, V., *Talanta*, 2001, **54**, 15.
- [14] Nascentes, C. C.; Kom, M.; Arruda, M. A. Z., *Microchem. J.*, 2001, **69**, 37.
- [15] Michaelis, M. R. A.; Wegscheider, W.; Ortner, H. M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 503.
- [16] Barbosa Jr., F.; Lima, E. C.; Krug, F. J., *Analyst*, 2000, **125**, 2079.
- [17] Lavilla, I.; Capelo, J. L.; Bendicho, C., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1999, **363**, 283.
- [18] Slaveykova, V. I.; Hoenig, M., *Analyst*, 1997, **122**, 337.
- [19] Krivan, V.; Rommelt, T., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 137.
- [20] Magalhães, C. E. C.; Arruda, M. A. Z., *Quim. Nova*, 1998, **21**, 459.
- [21] Lynch, S.; Littlejohn, D., *Talanta*, 1990, **37**, 825.
- [22] Ebdon, L.; Fisher, A. S.; Parry, H. G. M.; Brown, A. A., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 321.
- [23] Qiao, H.; Jackson, K. W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1992, **47**, 1267.
- [24] Miller-Ihli, N. J., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1993, **345**, 482.
- [25] Arruda, M. A. Z.; Quintela, M. J.; Gallego, M.; Valcárcel, M., *Analyst*, 1994, **119**, 1695.
- [26] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 657.
- [27] Bermejo-Barrera, P.; Barciela-Alonso, C.; Aboal-Somoza, M.; Bermejo-Barrera, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 469.
- [28] Tan, Y.; Marshall, W. D.; Blais, J. S., *Analyst*, 1996, **121**, 483.
- [29] Bermejo-Barrera, P.; Barciela-Alonso, M. C.; Moreda-Piñeiro, J.; González-Sixto, C.; Bermejo-Barrera, A., *Spectrochim. Acta Part B*, 1996, **51**, 1235.
- [30] Mierzwa, J.; Adeloju, S. B.; Dhindsa, H. S., *Analyst*, 1997, **122**, 539.
- [31] Meeravali, N. N.; Kumar, S. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 647.
- [32] Magalhães, C. E. C.; Lima, E. C.; Krug, F. J.; Arruda, M. A. Z., *Mikrochim. Acta*, 1999, **132**, 95.

- [33] Bermejo-Barrera, P.; Verdura-Constenla, E. M.; Moreda-Piñeiro, A., *Anal. Chim. Acta*, 1999, **398**, 263.
- [34] Huang, S. J.; Jiang, S. J., *Analyst*, 2000, **125**, 1491.
- [35] Lima, E. C.; Barbosa Jr, F.; Krug, F. J.; Tavares, A., *Talanta*, 2002, **57**, 177.
- [36] Kamogawa, M. Y.; Nogueira, A. R. A.; Costa, L. M.; Garcia, E. E.; Nóbrega, J. A., *Spectrochim. Acta Part B*, 2001, **56**, 1973.
- [37] Moreda-Piñeiro, J.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Fernández-Fernández, E.; Prada-Rodríguez, D., *Anal. Chim. Acta*, 2002, **461**, 261.
- [38] Ortner, H. M.; Schlemmer, G.; Welz, B.; Wegscheider, W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1985, **40**, 959.
- [39] Welz, B.; Schlemmer, G.; Ortner, H. M., *Spectrochim. Acta Part B*, 1986, **41**, 567.
- [40] Mantell, C. L., **Carbon and Graphite Handbook**, New York: John Wiley & Sons, Inc., 1968.
- [41] L'vov, B. V., **Atomic Absorption Spectrochemical Analysis**, New York: American Elsevier Publishing Company Inc., 1970.
- [42] Welz, B.; Curtius, A. J.; Schlemmer, G.; Ortner, H. M.; Birzer, W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1986, **41**, 1175.
- [43] Welz, B.; Schlemmer, G.; Ortner, H. M.; Birzer, W., *Spectrochim. Acta Part B*, 1989, **44**, 1125.
- [44] Rademeyer, C.; Radziuk, B.; Romanova, N.; Skaugset, N. P.; Skogstad A.; Thomassen, Y., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 739.
- [45] Benzo, Z.; Garaboto, A.; Ruetter, F.; Quintal, M.; León, V., *Spectrochim. Acta Part B*, 1997, **52**, 1305.
- [46] Winick, H.; Bienenstock, A., *Ann. Rev. Nucl. Part. Sci.*, 1978, **28**, 33.
- [47] Eberhardt, W., **Applications of Synchrotron Radiation: high-resolution studies of molecules and molecular adsorbates on surfaces**, Heidelberg: Springer-Verlag, 1995.
- [48] Adams, F.; Janssens, K.; Snigirev, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 319.
- [49] Rindby, A., *X-ray Spectrom.*, 1993, **22**, 187.
- [50] Silva, C. G., *Rev. Mex. Fis.*, 1997, **43**, 795.
- [51] Craievich, A. F.; Rodrigues, A. R., *Hyperfine Interact.*, 1998, **113**, 465.
- [52] Gomes, P. A. D., **Aplicação da criossorção no vácuo de aceleradores e linhas de luz síncrotron**. Campinas: Unicamp. Dissertação de Mestrado, 1990
- [53] Janssens, K.; Vittiglio, G.; Deraedt, I.; Aerts, A.; Vekemans, B.; Vincze, L.; Wei, F.; Deryck, I.; Schalm, O.; Adams, F.; Rindby, A.; Knöchel, A.; Simionovici, A.; Snigirev, A., *X-ray Spectrom.*, 2000, **29**, 73.
- [54] Jones, K. W.; Gordon, B. M., *Anal. Chem.*, 1989, **61**, 341A.
- [55] Horowitz, P.; Howell, J. A., *Science*, 1972, **178**, 608.
- [56] Pérez, C. A.; Radtke, M.; Sánchez, H. J.; Tolentino, H.; Neuenschwander, R. T.; Barg, W.; Rubio, M.; Bueno, M. I. S.; Raimundo, I. M.; Rohwedder, J. J. R., *X-ray Spectrom.*, 1999, **28**, 320.
- [57] Sánchez, H. J.; Pérez, C. A.; Grenón, M., *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, 2000, **170**, 211.

- [58] Jenkins, R., ***X-ray fluorescence spectrometry***, New York: John Wiley & Sons, 1988.
- [59] de Jesus, E. F. O.; Simabuco, S. M.; dos Anjos, M. J.; Lopes, R. T., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 1181.
- [60] Simabuco, S. M.; Matsumoto, E., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 1173.
- [61] ***USS-800 Ultrasonic Slurry Sampler***, Uberlingen: Perkin-Elmer, 1999.
- [62] Grotti, M.; Abemoschi, M. L.; Soggia, F.; Tiberiade, C.; Frache, R., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 1847.
- [63] Grotti, M.; Leardi, R.; Frache, R., *Anal. Chim. Acta*, 1998, **376**, 293.
- [64] Imai, S.; Kubo, Y.; Yonetani, A.; Ogawa, N.; Kikuchi, Y., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 1199.
- [65] Almeida, M. C.; Seitz, W. R., *Appl. Spectrosc.*, 1986, **40**, 4.
- [66] Wieteska, E.; Drzewinska, A., *Chem. Anal-Warsaw*, 1995, **40**, 207.
- [67] Manning, D. C.; Slavin, W.; Carrick, G. R., *Spectrochim. Acta Part B*, 1982, **37**, 331.
- [68] Analytical Methods Committee, *Analyst*, 1987, **112**, 199.

---

---

## CAPÍTULO 3

### TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO DE IMAGENS MICROGRÁFICAS E VARREDURAS

Parte das informações deste capítulo foram publicadas nos seguintes artigos científicos:

Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.. Exploratory analysis of micrographic Teflon images. *Mikrochimica Acta*, 2001, **136**, 55.

Pereira-Filho, E. R.; Pérez, C. A.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.. Metals distribution and investigation of L'vov platform surface using principal component analysis, multi-way principal component analysis, micro synchrotron radiation X-ray fluorescence spectrometry and scanning electron microscopy after the determination of Al in a milk slurry sample. *Spectrochimica Acta Part B*, 2002, **57**, 1259.

Matos, G. D.; Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z.. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens. *Analytica*, 2003, no prelo.

Pereira-Filho, E. R.; Sena, M. M.; Arruda, M. A. Z.; Poppi, R. J.. Exploratory analysis of L'vov platform surfaces for electrothermal atomic absorption spectrometry by using three-way chemometric tools. *Analytica Chimica Acta*, Submetido para publicação.

---

---

## 1. OBJETIVOS

Neste terceiro capítulo serão mostrados todos os resultados oriundos do tratamento quimiométrico das imagens provenientes das plataformas de L'vov. Concomitantemente, os dados das varreduras no LNLS foram tratados com o auxílio do PARAFAC. Em outro ponto deste capítulo serão também discutidos alguns resultados provenientes de análises termogravimétricas das plataformas de L'vov utilizadas na determinação de Al, Cd e Pb. Estas informações foram correlacionadas e culminaram na proposta de um possível mecanismo de atomização para o Al tendo o Zr como modificador químico permanente.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. IMAGENS

Além de dados numéricos, algumas técnicas analíticas são capazes de gerar imagens. A SEM é um exemplo de como imagens podem ser utilizadas na visualização de fenômenos que ocorrem em superfícies. Estas modificações podem ocorrer durante determinado processo e/ou tratamento [1]. São também exemplos a microscopia ótica [2], o sensoriamento remoto [1], entre outros. Entretanto, na maioria das vezes, essas informações visuais não são tratadas com o mesmo rigor científico que os dados numéricos, com conseqüente perda de informações que podem ser relevantes. Geralmente, na análise de imagens em química analítica, são efetuadas apenas algumas inspeções visuais, a fim de encontrar similaridades ou diferenças perceptíveis somente ao olho humano.

Observações utilizando o olho humano são um dos mais antigos e valiosos métodos de investigação científica. Assim, o interesse por imagens originou-se na década de 60 devido à exploração espacial, quando houve a necessidade de desenvolver algoritmos computacionais para o estudo das imagens geradas [3]. Algumas aplicações da análise de imagens são mostradas no Quadro 5 [4, 5].

A análise de imagens tornou-se popular em laboratórios analíticos na década de 80. Esta popularidade se deu, principalmente, devido ao surgimento de *hardware* e *software* mais modernos e velozes [6,7]. O processamento digital de imagens é uma área relativamente recente, que se beneficia de uma propriedade importante das imagens: a sua transformação em uma matriz de dados, onde cada pequena parte da mesma, denominada *pixel*, pode ser considerada como um objeto de uma matriz [8].

Quadro 5: Algumas aplicações da análise de imagens.

<b>Tipo de Imagem</b>	<b>Informação obtida</b>
Radiológica	Concentração de elementos radioativos
Microscópica	Concentração de substâncias absorvidas, e classificação histoquímica
Imagens de Ressonância Magnética Nuclear	Classificação histoquímica
Imagens de Ultra-som	Propriedades físicas e classificação histoquímica
Imagens de satélites	Detecção da presença de água e uso em agricultura

Neste cenário é importante ter como alternativa alguma ferramenta matemática que possa, de um modo mais criterioso e científico, extrair um número maior de informações de um conjunto de imagens.

## 2.2. PCA DE IMAGENS

Com a popularização da PCA para dados bidimensionais e o aumento da complexidade dos dados analíticos gerados, houve, também, o surgimento da Análise de Componentes Principais de Imagens (Image PCA). Esta é uma ferramenta quimiométrica muito útil quando muitas imagens são produzidas e necessitam ser exploradas [9,10].

Ao se trabalhar com a PCA de imagens, uma nova maneira de visualização dos dados deve ser introduzida: a grande maioria dos químicos, principalmente os analíticos, está habituada a submeter uma amostra de material biológico, por exemplo, a algum processo analítico e ter como resultado final um número (concentração de algum analito). Já com a PCA de imagens, um conjunto de imagens é processado e o resultado final pode ser, por exemplo, a distribuição espacial da concentração, informações sobre fenômenos de superfície e

similaridades ou desigualdades (classificação) entre materiais que passaram por algum processo [9].

As aplicações da PCA de imagens são variadas, sendo que, elas estão apenas começando a surgir na literatura. Como exemplo recente, pode ser citado o trabalho de Skarpeid *et al.* [11]. Neste trabalho, os autores empregaram fotos de géis de eletroforese para modelar a composição de diversos tipos de carnes, tendo como ferramenta a PCA de imagens. Shu *et al.* [12] empregaram a PCA de imagens e sensoriamento remoto para monitorar a qualidade de águas, tendo como parâmetro a concentração da clorofila A. A PCA de imagens pode ser empregada, também, para a classificação e previsão de propriedades funcionais de pós [13,14].

Neste sentido, a PCA de imagens pode ser usada para o estudo de informações visuais de todos os estágios de determinado processo, sendo possível a sua utilização no estudo de imagens de satélites [15], em imagens provenientes de Ressonância Magnética Nuclear [1] e na microscopia eletrônica [10]. A Figura 37 mostra mais algumas características da PCA de imagens quando comparada com técnicas convencionais. Em primeiro plano temos que a “Visualização Científica” caracterizada pela “transformação” de dados numéricos em gráficos, e a “Análise de Imagens” que corresponde ao processo inverso. Transformações efetuadas dentro do conjunto de dados e imagens são denominadas de “Processamento de Dados” e “Processamento de Imagens”, respectivamente.

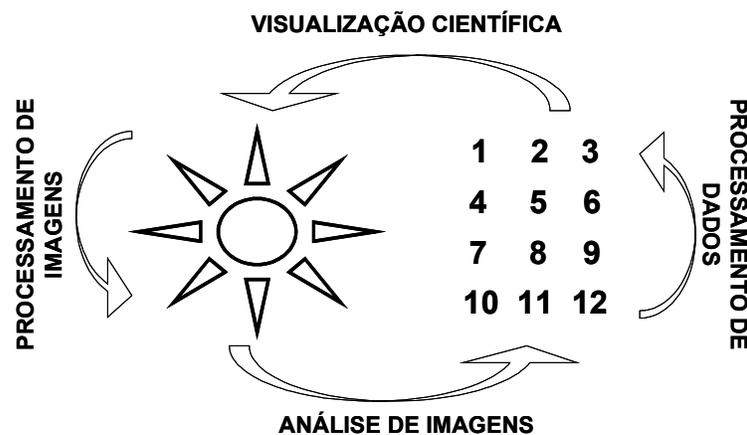


Figura 37: Comparação entre PCA de imagens e técnicas clássicas.

Como mencionado anteriormente, a PCA de imagens utiliza a propriedade de transformar *pixels* em objetos de uma matriz.

As imagens digitalizadas (transformadas em matrizes) podem ser organizadas em um arranjo tridimensional  $\underline{\mathbf{G}}$  de dimensões I, J e K (Figura 38).

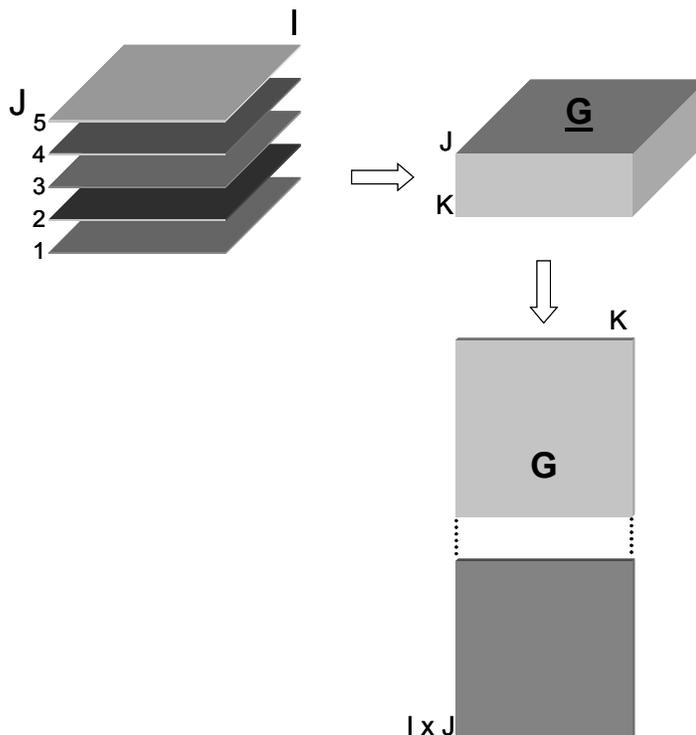


Figura 38: Geração do arranjo tridimensional  $\underline{\mathbf{G}}$  e seu desdobramento em uma longa matriz  $\mathbf{G}$ .

As dimensões I e J são as coordenadas geométricas das imagens e K é o número de imagens ou variáveis. Desta forma, a PCA de imagens pode ser empregada para a interpretação de dados em um espaço de variáveis. O arranjo tridimensional  $\underline{\mathbf{G}}$  pode ser desdobrado em uma longa matriz  $\mathbf{G}$  de tamanho I.J x K (Figura 38). Na PCA de imagens, a transposta da matriz  $\mathbf{G}$  ( $\mathbf{G}'$ ) é multiplicada pela matriz  $\mathbf{G}$  tendo como resultado uma matriz  $\mathbf{Z}$  de dimensões K por K (Figura 39). A matriz  $\mathbf{Z}$  é então decomposta em um somatório de imagens de *scores* e vetores de *loadings*, ou seja, o mesmo tratamento matemático utilizado na PCA para dados bidimensionais (ver capítulo 1). A visualização dos *loadings* é muito útil para efetuar uma análise exploratória ou classificação [7]. A equação a seguir resume as informações presentes nas Figuras 38 e 39.

$$\underline{\mathbf{G}} = \sum_{a=1}^A \mathbf{T}_a \otimes \mathbf{p}_a + \underline{\mathbf{E}}$$

onde  $\underline{\mathbf{G}}$  é o arranjo tridimensional de imagens,  $\mathbf{T}_a$  é a matriz de scores de imagens,  $\mathbf{p}_a$  é a matriz de *loadings*,  $\underline{\mathbf{E}}$  é um arranjo com os erros e o símbolo  $\otimes$  representa o produto de Kronecker [7-9].

Na PCA de imagens, as imagens podem ser também pré-processadas. No pré-processamento centrado na média é calculada a média de todos os *pixels* de todas as imagens. Com estes valores é gerado um vetor  $\mathbf{m}$ . Para centrar as imagens na média subtrai-se de cada pixel o valor de sua média correspondente. A equação abaixo mostra o cálculo da média [7,16]:

$$m_k = \left[ \frac{1}{IJ} \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J g_{ijk} \right]$$

onde,  $m_k$  é a média,  $I$  e  $J$  são os números de *pixels* de uma imagem e  $g_{ijk}$  é um *pixel* no arranjo  $\underline{\mathbf{G}}$ .

No autoescalamento subtrai-se o valor original pela média e, em seguida, dividi-se o valor pelo desvio padrão, a equação a seguir mostra o cálculo do desvio padrão ( $S_k$ ):

$$S_k = \sqrt{\left[ \frac{1}{(IJ-1)} \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J [(g_{ijk} - m_k)^2] \right]}$$

onde,  $S_k$  é o desvio padrão de uma determinada imagem.

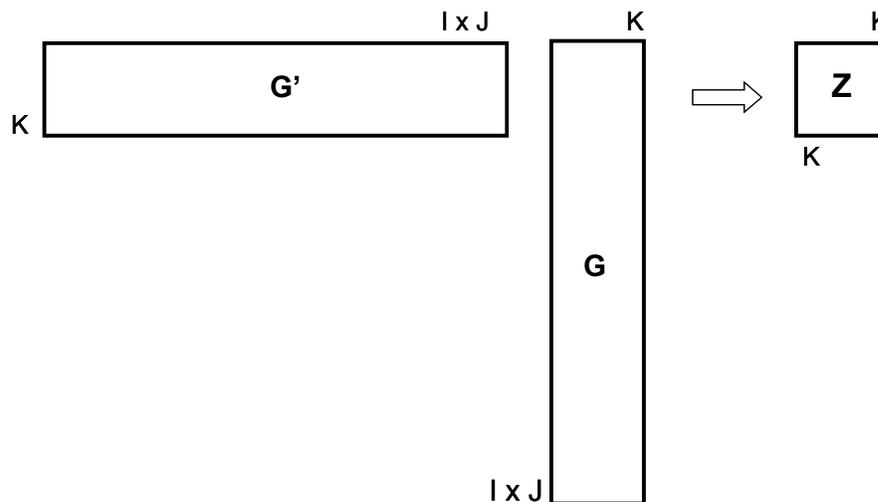


Figura 39: Geração da matriz  $\mathbf{Z}$ : multiplicação da matriz  $\mathbf{G}'$  por  $\mathbf{G}$  tendo como resultado  $\mathbf{Z}$ .

### 2.3. PARAFAC

No início dos anos 70 (século XX), a análise em três dimensões (ou três modos) foi introduzida na quimiometria [17]. Um arranjo tridimensional pode ser obtido ao se coletar dados com um conjunto fixo de objetos e variáveis sob diferentes condições experimentais, tais como, tempo, temperatura, pH, entre outras. Os conjuntos de dados coletados sob diferentes condições podem ser organizados em um arranjo tridimensional.

O tipo mais comum de dados analisados por técnicas em três dimensões é aquele gerado por métodos hifenados, como, por exemplo, espectroscopia de fluorescência [18, 19] e HPLC-DAD [20]. Outros tipos de dados tridimensionais que podem ser analisados em quimiometria podem ser encontrados em modelagem por QSAR [21], controle de processos [22], cinética [20] e análises ambientais [23].

Os métodos tridimensionais mais comumente usados são o PARAFAC [24,25], Tucker3 [26] e N-PLS [25,27].

A análise exploratória não é na verdade um modelo, porém, um processo, onde cada modelo proposto fornece novos conhecimentos de um fenômeno físico-químico que gerou os dados. A principal proposta de uma análise exploratória é interpretar, a partir dos dados, as inter-relações entre variáveis e objetos com um mínimo de conhecimentos prévios.

O PARAFAC tem sido utilizado, principalmente, em problemas relacionados com resolução de curvas e calibração [24,25], e muito pouco na análise exploratória [28]. Apesar do aumento do emprego de métodos tridimensionais em química analítica, o uso destes conhecimentos em espectrometria atômica é raro. Assim, foram encontrados na literatura apenas dois trabalhos sobre o emprego do PARAFAC em espectrometria atômica: no primeiro, Marcos *et al.* [29] investigaram o tempo de estabilidade em ICP OES; no segundo Moreda-Piñeiro *et al.* [30] estudaram erros sistemáticos em ICP OES e espectrometria de massas.

O PARAFAC é um método de decomposição para dados tridimensionais, que foi proposta inicialmente para estudos em psicometria, no início dos anos 70. A psicometria é a medida da duração e da intensidade de processos mentais, por meio

de métodos padronizados. A decomposição é feita em tríades ou fatores trilineares. No lugar de vetores de *scores* e *loadings*, como na PCA, cada decomposição produz três vetores de *loadings*. Para um melhor entendimento destes conceitos, podemos traçar o seguinte paralelo: na PCA os dados originais são projetados em um novo conjunto de eixos chamados de componentes principais; no PARAFAC estes “componentes principais” são os fatores. No PARAFAC não é comum fazer distinção entre *scores* e *loadings*, pois eles são tratados numericamente da mesma forma. Outra importante diferença entre PCA e o PARAFAC é que no PARAFAC não é necessário impor ortogonalidade entre os fatores para proceder a análise exploratória. A Figura 40 mostra a decomposição de um arranjo tridimensional em tríades.

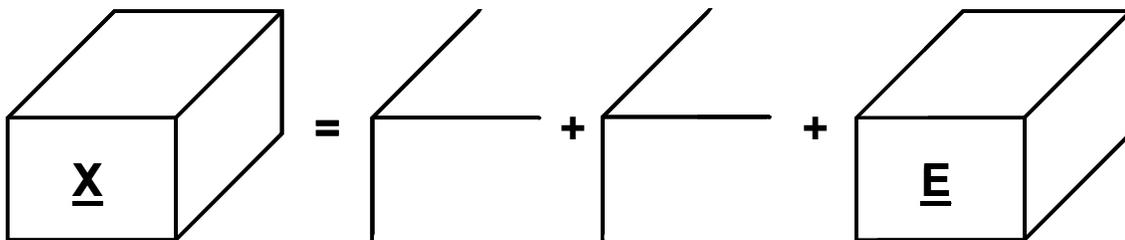


Figura 40: Decomposição de um arranjo tridimensional em tríades e uma matriz de erros  $\underline{E}$ .

Três matrizes de *loadings*,  $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{B}$  e  $\mathbf{C}$ , com elementos  $a_{if}$ ,  $b_{jf}$  e  $c_{kf}$ , fornecem a estrutura do PARAFAC. O PARAFAC é ajustado para minimizar a soma dos quadrados dos resíduos  $e_{ijk}$  na equação a seguir:

$$\mathbf{X}_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk}$$

onde  $F$  é o número total de fatores. Finalmente, outro importante aspecto a mencionar é o uso de restrições com a finalidade de promover uma fácil interpretação ou estabilidade do PARAFAC. O ajuste restrito será sempre menor que o ajuste não restrito; porém, se o segundo é mais interpretável e real, estes fatos justificam a diminuição no ajuste. Os tipos de restrições mais utilizadas são não-negatividade, ortogonalidade e unimodalidade [25].

## 2.4. TERMOGRAVIMETRIA

As aplicações da termogravimetria estão voltadas, principalmente, para o estudo das propriedades físico-químicas e controle de qualidade de precipitados, polímeros e amostras sólidas de uma maneira geral. O perfil das curvas termogravimétricas pode trazer valiosas informações sobre, por exemplo, temperatura de decomposição, ponto de fusão, entre outros [31]. Outro fator importante está no estudo da derivada das curvas termogravimétricas. Este tipo de curva pode trazer informações mais detalhadas sobre as temperaturas de transição de um estado físico para outro ou sobre a volatilização de determinado componente [31,32].

Na literatura, há alguns exemplos recentes voltados para a AAS. No primeiro, Santos *et al.* [33] empregaram termogravimetria para elucidar mecanismos de atomização em ETA-W. Os autores empregaram um cadinho de W para simular as condições de operação da ETA-W durante as análises termogravimétricas. Com este procedimento, juntamente com dados oriundos de difração de raios-X, os autores concluíram que a principal rota de atomização do Pb no atomizador estudado é via formação de PbO, seguida de sua redução a Pb, devido à introdução de H<sub>2</sub>.

No segundo trabalho, Galbács *et al.* [34] empregaram a termogravimetria na otimização das temperaturas de pirólise empregadas em SS-ETV-ICP-MS. Neste trabalho os autores determinaram Cd em cinco amostras certificadas de planta, solo e sedimento.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

### 3.1. MATERIAL

Na aplicação da PCA de imagens e do PARAFAC foi usado o MATLAB versão 6.1 (The MathWorks). As rotinas da PCA de imagens foram aplicadas a partir do “PLS Toolbox”, versão 2.0 (Eigenvector Technologies). No caso do PARAFAC, os

dados foram modelados utilizando o “The N-way Toolbox for MATLAB”, versão 2.00 [(<http://www.models.kvl.dk/source/>)] acessado em 31 de Março de 2003] [35].

Nas análises termogravimétricas foi empregado o TGA 2050 da TA Instruments. Na aquisição dos dados foi empregada uma atmosfera de Ar. As temperaturas iniciais e finais foram iguais a 30 e 980°C, respectivamente, e a taxa de aquecimento utilizada foi de 10°C/min.

### **3.2. PCA DE IMAGENS – PLATAFORMAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DE Al, Cd E Pb**

Esta técnica quimiométrica foi empregada no tratamento de imagens micrográficas das plataformas de L'vov. De acordo com o procedimento adotado no capítulo 2, foram obtidas 10 micrografias de cada plataforma ao longo de seu eixo longitudinal. Estas micrografias foram digitalizadas e o tamanho final foi de 650 por 425 *pixels*. Estas mesmas plataformas foram utilizadas nas varreduras com micro sonda de fluorescência de raios-X do LNLS (ver capítulo 2).

Ao todo foram obtidas 12 plataformas sendo: 2 novas (uma delas tratada com Zr); 6 utilizadas na determinação de Al sendo que 5 tratadas com Zr e uma tratada com Mg; 2 tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Cd e Pb e 2 tratadas com Pd + Mg e empregadas na determinação destes mesmos metais. Nas varreduras no LNLS foram encontradas ao todo 8 elementos na superfície das plataformas. A Tabela 14 traz o resumo de todas as informações levantadas, as amostras utilizadas e os elementos predominantemente encontrados.

Para estudar as plataformas de maneira local e global foram feitas três análises com a PCA de imagem. A primeira foi composta pelas duas plataformas novas e as seis plataformas empregadas na determinação de Al (plataformas de 1 a 8 na Tabela 14). O total foi de 8 plataformas (80 micrografias). Na segunda análise com PCA de imagens, foi feito um estudo para as plataformas utilizadas nas determinações de Cd e Pb, com um total de 6 plataformas (2 novas, 2 para o Cd e 2 para o Pb). Finalmente, na terceira PCA de imagens foram utilizadas todas as 12 plataformas (total de 120 imagens).

Tabela 14: Resumo das informações levantadas durante as varreduras no LNLS.

Número da plataforma	Analito	Modificador* - Número de tratamentos	Número de ciclos de aquecimento	Suspensão empregada	Elemento(s) predominante(s)
1	-	-	-	-	-
2	-	Zr - 1	-	-	Zr
3	Al	Zr - 1	50	Leite em pó	Zr
4	Al	Zr - 2	100	Leite em pó	Zr
5	Al	Zr - 3	150	Leite em pó	Zr
6	Al	Zr - 4	200	Leite em pó	Zr
7	Al	Zr - 10	500	Leite em pó	Zr, Hf, Ti e Fe
8	Al	Mg - 500	500	Leite em pó	Ca
9	Cd	Pd + Mg - 200	200	Fígado bovino	Ti, Pd, Ca, Fe, P e S
10	Cd	Zr - 1	1100	Fígado bovino	Ti, Zr, Hf, P e Fe
11	Pb	Zr - 1	864	Folhas de faia	Ti e Ca
12	Pb	Pd + Mg - 416	416	Folhas de faia	Pd, Ti e Fe

\*Zr foi utilizado como modificador químico permanente. O Mg e a mistura Pd + Mg foram utilizados como modificadores convencionais.

### 3.3. EMPREGO DO PARAFAC

Para tentar correlacionar as informações obtidas na PCA de imagens com todas as plataformas, foi efetuada uma análise exploratória das varreduras utilizando o PARAFAC. A Figura 41 mostra a superfície de resposta para cada elemento encontrado nas varreduras com  $\mu$ SRXRF. Alguns elementos foram encontrados em todas as plataformas.

Para efetuar esta análise foi montado um arranjo tridimensional de 12x8x100, ou seja, 3 modos: o primeiro formado pelas 12 plataformas de L'vov; o segundo caracterizado pelos 8 elementos encontrados durante as varreduras no LNLS; e o terceiro modo proveniente da intensidade de fluorescência encontrada para cada um dos 100 pontos. Os 13 primeiros pontos das varreduras foram descartados, pois continham algumas informações sobre a composição do porta-amostra. A Figura 42 mostra a formação deste arranjo.

O pré-processamento utilizado foi o autoescalamento no segundo modo. Este pré-processamento foi adotado para dar os mesmos pesos a todos os elementos encontrados nas varreduras. Para validar a análise, foi utilizado o diagnóstico da consistência da matriz central (CORCONDIA). Este procedimento foi sugerido para determinar o número ideal de fatores em uma análise com o PARAFAC [25].

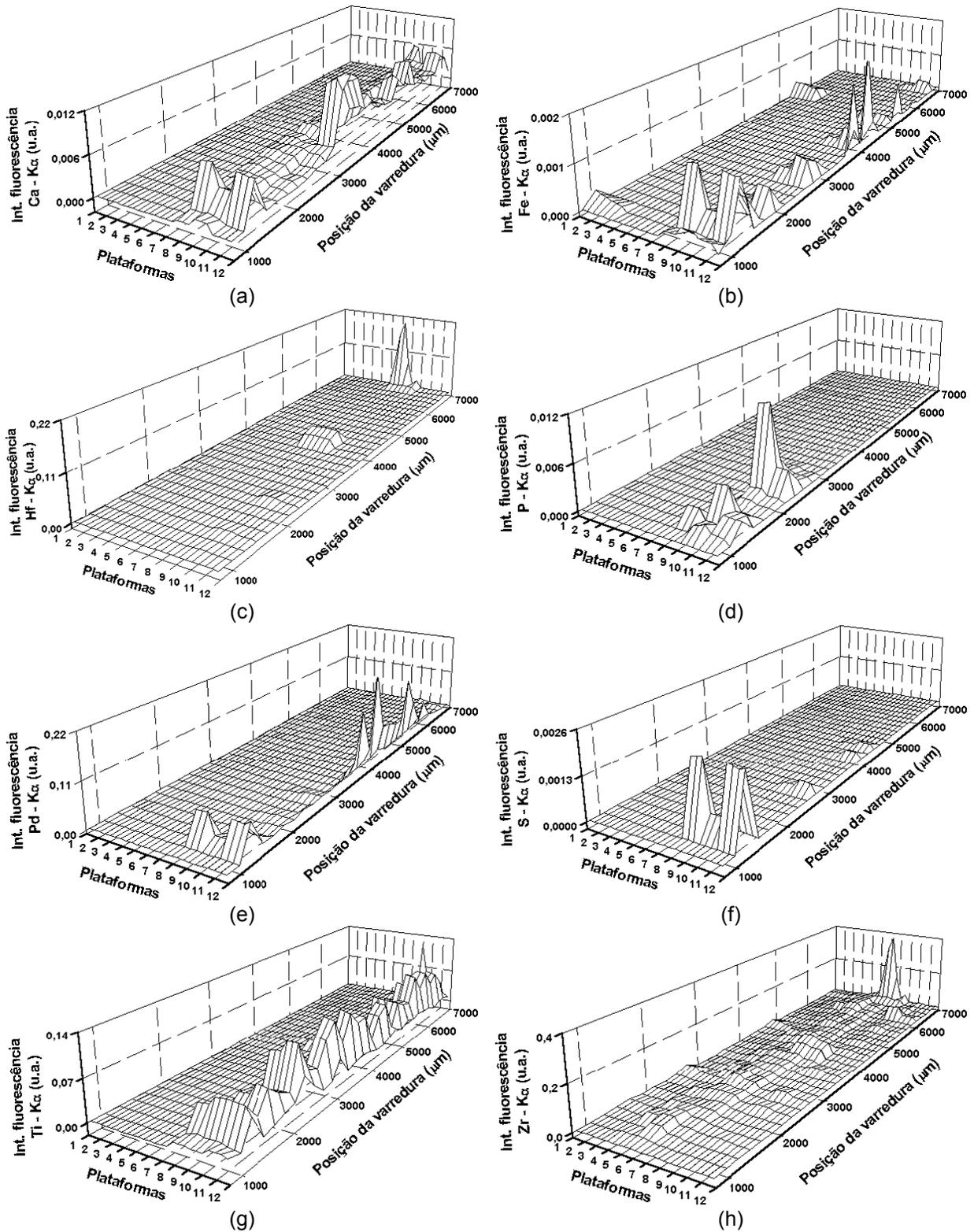


Figura 41: Superfície de resposta para cada elemento (Ca – a, Fe – b, Hf – c, P – d, Pd – e, S – f, Ti – g, Zr – h) encontrado nas varreduras com  $\mu$ SRXRF nas plataformas da Tabela 14.

A CORCONDIA baseia-se no fato de que o PARAFAC pode ser considerado como um caso especial do Tucker3 [26] com uma matriz superidentidade do *core*. A consistência do *core* é baseada no cálculo de um arranjo  $\underline{\mathbf{G}}$  do Tucker3 com as matrizes dos fatores do PARAFAC ( $\underline{\mathbf{G}}$  é a matriz central ou *core*). Se  $\underline{\mathbf{G}}$  tiver todos os elementos da superdiagonal próximos a 1 e fora desta diagonal próximos a zero, podemos dizer que a análise com o PARAFAC não está super estimada e a consistência está próxima a 100%. Uma consistência próxima a 90% é um indicativo de uma análise apropriada, valores próximos a 50% indicam problemas com falta de trilinearidade. Valores de consistência próximos a zero ou negativos indicam uma análise inválida, ou seja, não está descrevendo a natureza trilinear dos dados [25]. Uma consistência inválida indica que muitos fatores estão sendo extraídos, a análise exploratória não é específica ou amostras anômalas (*outliers*) estão provocando distúrbios. A consistência de uma análise exploratória com o PARAFAC diminui pouquíssimo quando o número de fatores aumenta; porém, diminui vertiginosamente quando o valor correto é ultrapassado. Portanto, o procedimento escolhido deve ter o maior número possível de fatores e uma consistência do *core* válida.

Uma observação final está no uso de restrições. A restrição de ortogonalidade [24,25] pode ajudar a evitar problemas de degenerescência da análise, estabilizando a solução. Na utilização do PARAFAC foi imposta a ortogonalidade entre os fatores no primeiro modo (plataformas) com a finalidade de se extrair mais fatores. A ortogonalidade tem sido raramente empregada em aplicações quimiométricas, pois ela não é adequada a problemas de resolução de curvas, os mais comumente encontrados. Entretanto, ela pode ser muito útil em análises exploratórias, pois permite compartilhar a variância com outros fatores, permitindo uma interpretação mais direta.

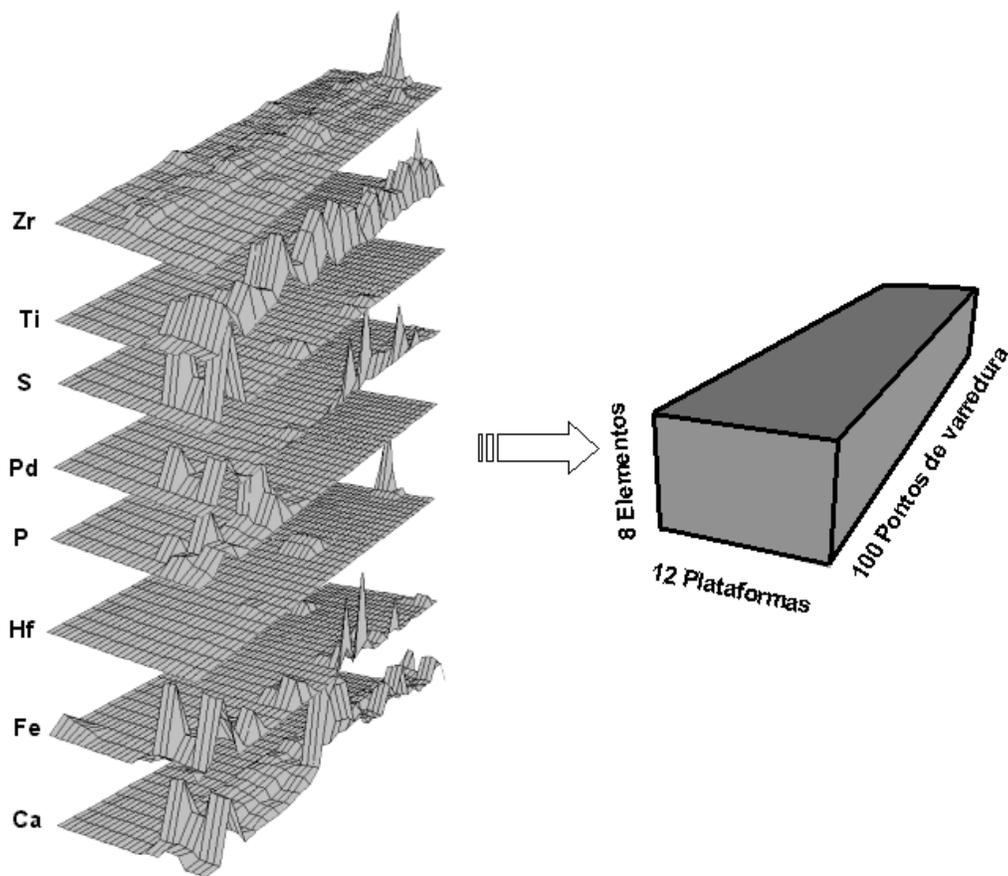


Figura 42: Ilustração da formação do arranjo para posterior aplicação do PARAFAC.

### 3.4. TERMOGRAVIMETRIA

No emprego da termogravimetria, as 12 plataformas mostradas na Tabela 14 foram moídas com o auxílio de almofariz e pistilo e massas de 5 a 15 mg foram utilizadas na obtenção dos resultados.

Além da porcentagem de massa em função da temperatura foram coletados, também, os dados referentes à primeira derivada da porcentagem da massa. Com os dados das derivadas foi possível efetuar uma PCA para observar algumas tendências na utilização de modificadores químicos permanentes ou convencionais. É importante ressaltar que são raras na literatura aplicações que combinem PCA e termogravimetria [36, 37].

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – RESULTADOS PARA O AI

Após a digitalização das 80 micrografias, cada uma ficou dimensionada com 650x425 *pixels*. Um arranjo tridimensional foi montado com 650 colunas, 425 linhas e 80 variáveis (micrografias). Ao se empregar a PCA de imagens, nenhum tipo de pré-processamento (centrado na média ou auto-escalonamento) foi feito nas imagens. Estes tipos de pré-processamento haviam sido testados, porém, não foi notada nenhuma diferença nos resultados encontrados.

A Figura 43 mostra o gráfico dos *loadings* obtido a partir do PC1 x PC2. Desta forma, pequenos valores de *loadings* para uma micrografia significam que a sua contribuição na análise exploratória foi baixa e valores de *loadings* muito próximos significam que as micrografias contribuem de forma similar. Na Figura 43 identificam-se dois grupamentos. O primeiro representado por triângulos invertidos, é relativo à plataforma modificada com Mg (plataforma 8 – ver Tabela 14) e o segundo (quadrados, estrelas e círculos) corresponde às demais micrografias. A partir deste segundo grupamento, é possível visualizar que algumas micrografias da plataforma tratada com Zr e com 500 ciclos de aquecimento estão distanciadas. Neste caso, inferiu-se que algumas partes da plataforma (centro e extremidades) apresentam comportamentos distintos. Desta forma, nota-se que algumas micrografias do centro das plataformas (marcadas com a letra C) tratadas com Zr e Mg (plataformas 7 e 8 – Tabela 14) e com 500 ciclos de aquecimento, apresentam um comportamento distinto quando comparadas com as micrografias obtidas a partir da extremidade. As micrografias marcadas com a letra C são mostradas na Figura 44. A Figura 44a mostra um comportamento completamente diferente da Figura 14g (Capítulo 2), apesar de terem sido obtidas da mesma plataforma (500 ciclos de aquecimento e tratada com Zr). Estas duas micrografias sugerem que na mesma superfície atomizadora podem ocorrer fenômenos distintos, e conseqüentemente, mecanismos de atomização diferentes. As Figuras 44b e 14h também foi obtidas da mesma

plataforma e após 500 ciclos de aquecimento apresentam morfologias completamente distintas.

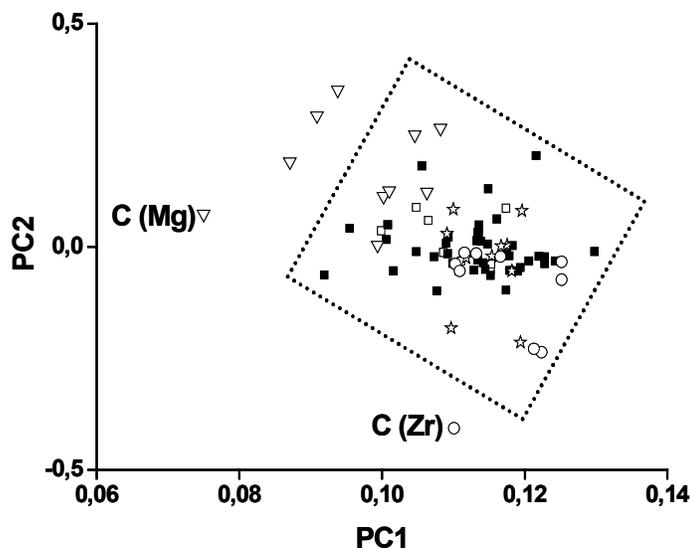


Figura 43: Gráfico dos *loadings* obtido a partir da PCA de imagens. As estrelas e quadrados vazios representam, respectivamente, as plataformas novas com e sem tratamento com Zr; os quadrados cheios representam as plataformas com 50, 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento e tratadas com Zr; os triângulos invertidos e os círculos representam as micrografias obtidas das plataformas tratadas com Mg e Zr e com 500 ciclos de aquecimento, respectivamente. A letra C corresponde às micrografias obtidas da parte central das plataformas com 500 ciclos de aquecimento, e tratadas com Zr ou Mg.

Outro ponto importante a ser frisado é o fato de que, apesar de haver plataformas tratadas por 50 a 500 ciclos, com a PCA de imagens não foi possível verificar diferenças marcantes entre elas e as plataformas novas (representadas pelas estrelas e quadrados). Esta observação é muito relevante, pois sugere que o emprego de modificadores químicos permanentes é um excelente procedimento para a preservação das plataformas, mesmo com condições drásticas (altas temperaturas e atomização de suspensões).

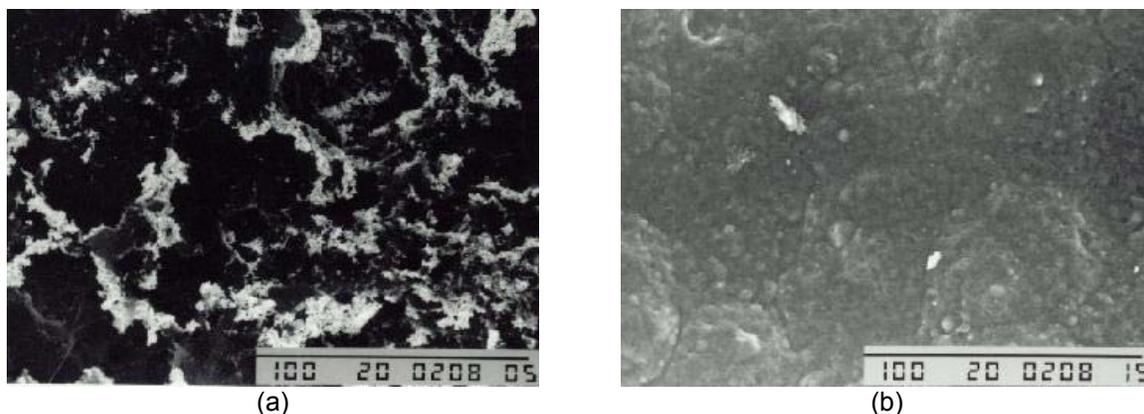


Figura 44: Micrografias da parte central (posição 5 – ver Figura 13) das plataformas tratadas com Zr (a) e Mg (b) e com 500 ciclos de aquecimento.

#### 4.2. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – RESULTADOS PARA Cd e Pb

O tamanho das imagens utilizadas foi o mesmo daquelas utilizadas na PCA de imagens para o Al. A Figura 45 mostra os resultados encontrados. Neste caso, foram observadas três tendências: a primeira formada pela plataforma tratada com Pd + Mg e utilizada na determinação de Cd (plataforma 9 – ver Tabela 14), e a segunda, foi formada pelas plataformas utilizadas na determinação de Pb (plataformas 11 e 12). Em seguida, temos um grupo formado pelas plataformas novas (Plataformas 1 e 2) e pela plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Cd (plataforma 10). Inicialmente, temos as duas plataformas novas agrupadas (Figura 45a). Este fenômeno já havia sido observado na primeira análise (Figura 43). As plataformas tratadas com Zr (10 e 11 – ver Tabela 14) apresentaram-se misturadas às plataformas novas (Figura 45b). Este comportamento foi observado, principalmente, com a plataforma utilizada na determinação de Cd (plataforma 10 – Tabela 14). Esta observação é interessante, pois, mesmo atingindo 1100 ciclos de aquecimento, a plataforma utilizada na determinação de Cd e tratada com Zr apresentou as mesmas características das plataformas novas.

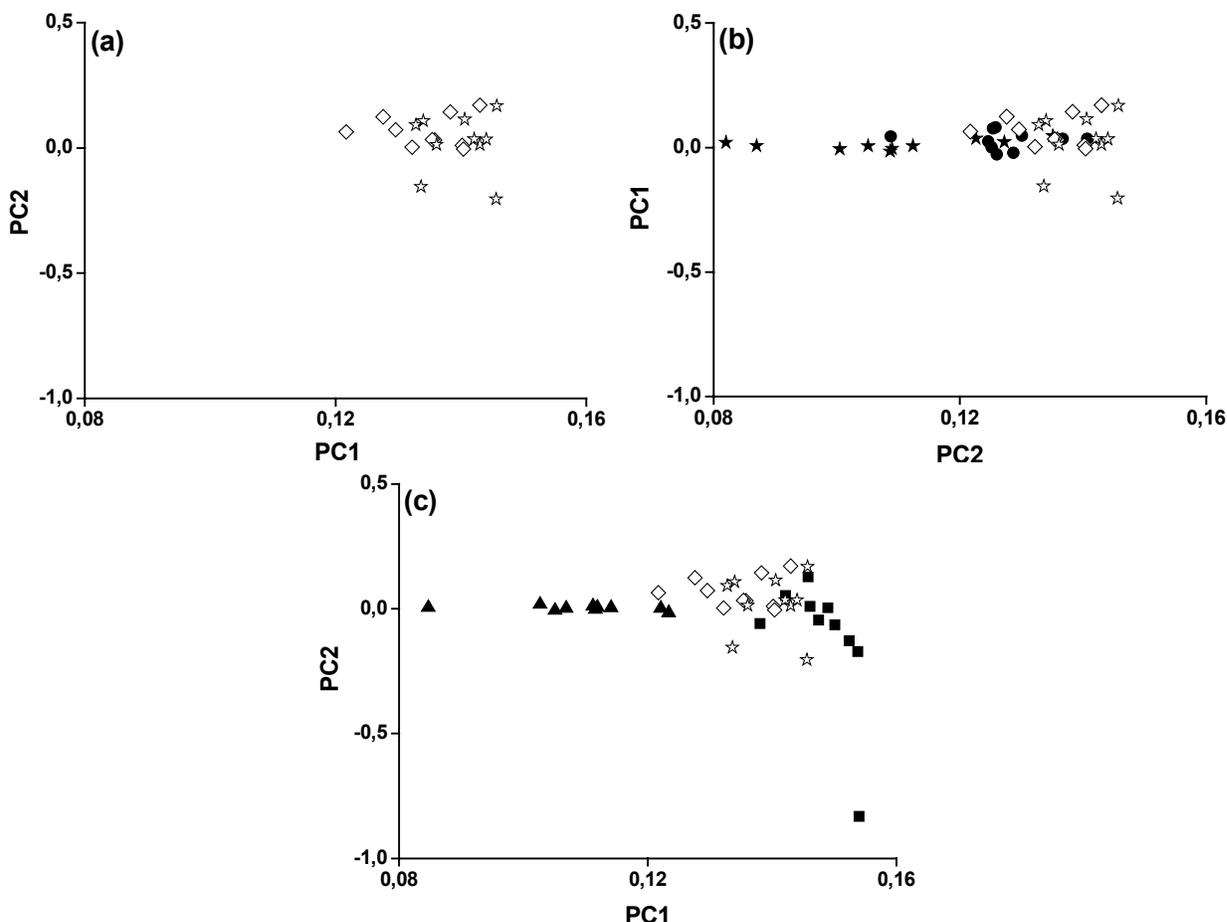


Figura 45: Gráfico dos *loadings* obtido a partir da PCA de imagens. Os losangos e estrelas representam, respectivamente, as plataformas novas com e sem tratamento com Zr (a); os círculos e estrelas cheias representam as plataformas tratadas com Zr, e utilizadas na determinação de Cd e Pb (b), respectivamente. Os quadrados e triângulos cheios representam as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd e Pb (c), respectivamente.

### 4.3. EMPREGO DE PCA DE IMAGENS – ESTUDO GLOBAL

Depois da aplicação da PCA de imagens, foi efetuada a visualização dos gráficos de *loadings* para as 12 plataformas. Alguns comportamentos interessantes foram observados. A plataforma 8, utilizada na determinação de Al e tratada com Mg, apresentou uma diferenciação das demais plataformas, como pode ser observado por meio da Figura 46. As micrografias apresentadas por esta plataforma (estrelas pretas e vazias) foram posicionadas no lado esquerdo do gráfico.

As imagens obtidas da parte central (onde a suspensão de leite em pó foi depositada) da plataforma 8 (determinação de Al) apresentaram um comportamento

mais interessante ainda, pelo fato de estarem posicionadas mais distanciadas do grupo principal (ver estrelas vazias na elipse da Figura 46).

Dentro deste contexto, conclui-se que diferentes regiões da mesma plataforma apresentaram diferentes comportamentos durante as determinações; portanto, alguns metais podem ter apresentado diferentes direções de migração. Na Figura 46 nota-se uma região composta por diversas plataformas - círculos (inclusive as plataformas novas - triângulos), onde não foi possível efetuar uma separação entre as mesmas. Como conclusão, pode-se assumir que estas plataformas foram preservadas tais como as plataformas novas (triângulos pretos).

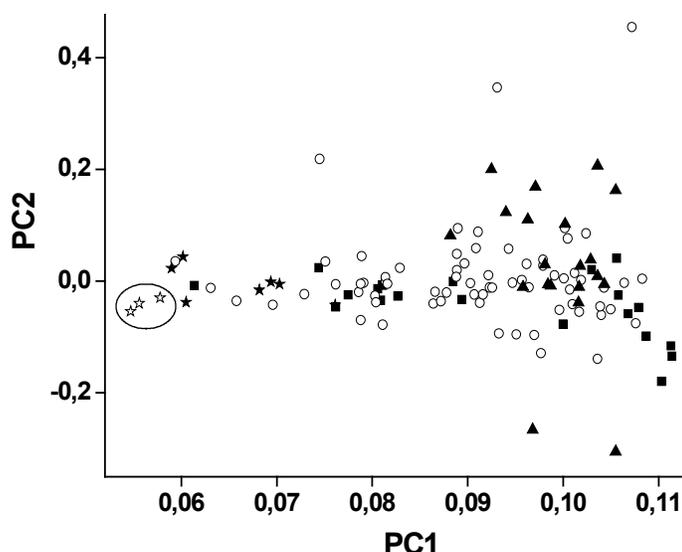


Figura 46: Gráfico dos *loadings* obtido a partir da PCA de imagens com todas as 12 plataformas. Os triângulos representam as plataformas novas com e sem tratamento com Zr; os quadrados representam as plataformas tratadas com Pd e Mg e utilizadas na determinação de Cd e Pb. Os círculos representam as plataformas tratadas com Zr e utilizadas na determinação de Al, Cd e Pb; as estrelas representam a plataforma tratada com Mg e utilizada na determinação de Al e as estrelas vazias (ver elipse) representam a parte central desta plataforma.

As imagens obtidas a partir das partes central e lateral das plataformas tratadas com Pd + Mg, 9 e 12 (quadrados pretos) – Tabela 14 tenderam a se posicionar no lado direito, e as outras posições foram misturadas com as imagens oriundas das plataformas novas, 1 e 2 (triângulos pretos), e a maioria das plataformas tratadas com Zr, 2-7, 10 e 11 (círculos abertos).

É importante apontar que esta separação não foi claramente constatada somente observando as imagens micrográficas das plataformas. Neste caso, depois

da aplicação da PCA de imagens, foram encontradas algumas evidências de que, provavelmente, a modificação química foi a responsável por esta separação. Uma investigação mais profunda poderia ser a correlação das informações visuais com as informações extraídas das varreduras no LNLS.

#### 4.4. APLICAÇÃO DO PARAFAC

De acordo com os resultados levantados por PCA de imagens, era esperado obter-se uma correlação das imagens de uma plataforma específica e a respectiva distribuição dos resíduos de elementos obtidos com a  $\mu$ SRXRF.

Um arranjo composto por 12 plataformas x 8 elementos x 100 posições (ver Figura 42) foi modelado com o PARAFAC. Foi assumido que os dados apresentavam um comportamento trilinear e o PARAFAC poderia levar a uma melhor caracterização das plataformas em função dos tipos de modificadores e analitos.

Desta forma, foi imposta a ortogonalidade no primeiro modo (plataformas), com o objetivo de modelar mais a variância e evidenciar diferenças entre as plataformas. Como consequência, os fatores obtidos correspondentes às plataformas foram forçados a não ter correlação entre si. Assim, uma análise com 6 fatores foi considerada a melhor com uma consistência de 95,0% e uma variância total explicada de 82,2%. Já uma análise com 7 fatores apresentou-se inadequada, devido a uma consistência de 35,0%.

No PARAFAC, os resultados encontrados com os fatores podem ser melhor compreendidos quando apresentados individualmente. A Figura 47 apresenta os resultados encontrados para os fatores 1 e 2. Estes fatores apresentaram valores altos para as plataformas 12 e 9, ou seja, foram correlacionados com as plataformas tratadas com Pd+Mg e, utilizadas na determinação de Pb – plataforma 12 (Figura 47a-c) e Cd – plataforma 9 (Figura 47d-f). Assim, a plataforma 12 foi principalmente caracterizada pela presença de Pd e Fe (Figura 47b), pois estes dois elementos apresentaram maiores valores para o modo 2 (elementos). Ao observarmos a Figura 47c podemos verificar que o centro da plataforma apresenta maiores valores para o modo 3 (posição da varredura). Portanto, o fator 1 caracteriza a plataforma 12 que,

por sua vez, apresentou, durante as varreduras na  $\mu$ SRXRF, altos sinais para o Fe e o Pd no centro de sua superfície. Esta é uma maneira didática de apresentar os resultados do PARAFAC, e os gráficos dos fatores com seus três modos (plataformas, elementos e posição) devem ser estudados/interpretados em conjunto.

A plataforma 9 possuiu uma grande influência devido, principalmente, a presença de S (ver Figura 47e) nas extremidades da plataforma (ver Figura 47f). O S pode ter sido originado da amostra certificada de fígado bovino, que apresenta uma concentração de 7850  $\mu$ g/g deste elemento. Outros elementos (Figura 47e) foram também identificados: Ca, Fe, P, Pd, e Ti.

A aplicação do PARAFAC tornou possível a diferenciação dos locais preferenciais onde alguns fenômenos ocorreram quando consideradas as atomizações do Cd e Pb. Na plataforma tratada com Pd+Mg nota-se que a parte central possui um papel mais importante na determinação do Pb (ver Figura 47c). Além disso, quando Cd foi considerado (plataforma também tratada com Pd+Mg), as laterais da plataforma foram mais influenciadas na atomização deste metal (ver Figura 47f). Estas informações estão em concordância com aquelas obtidas com a PCA de imagens (ver Figuras 45 e 46), que indicou que as partes central e lateral apresentaram uma diferença das demais regiões das plataformas. Em ambas plataformas, houve uma influência do Pd, porém, como já evidenciado no capítulo 2, este modificador não foi eficiente na estabilização dos sinais analíticos para o Cd e o Pb.

A Figura 48 mostra os resultados para o Fator 3. Este fator modelou a plataforma tratada com Zr e usada por 500 ciclos de aquecimento na determinação de Al em leite em pó (ver Figura 48a – plataforma número 7). Na Figura 48b pode-se observar que esta plataforma possui sinais significantes para Hf, Zr e em menor extensão o Ti. As posições mais importantes foram no centro e lado direito (Figura 48c). Estas informações confirmam as conclusões apresentadas no capítulo 2: Hf e Ti seguiram a mesma distribuição que o Zr.

As Figuras 49a e 49d (Fatores 4 e 5) mostram que as plataformas tratadas com Zr e Mg e usadas nas determinações de Cd, Pb e Al (plataformas 10, 11 e 8, respectivamente), sofrem uma grande influência, devido à presença de P e Ca (ver Figuras 49b e 49e). Para a plataforma 10, modelada pelo fator 4 (Figura 49a-c),

utilizada para a determinação de Cd esta influência foi observada, principalmente, no lado esquerdo da plataforma (ver Figura 49c). As plataformas 11 e 8, ambas modeladas pelo fator 5, apresentaram Ca em todas as posições (ver Figura 49f), porém, com maior intensidade de fluorescência na parte central da plataforma. Neste caso, novamente, uma boa correlação entre os dados da PCA de imagens (ver estrelas abertas na Figura 46) foi encontrada com o Ca residual, ou seja, o Ca pode ter contribuído para as mudanças morfológicas.

Finalmente, a Figura 50 apresenta o fator 6. Esta figura mostra a plataforma nova e tratada com Zr (plataforma 2) e as plataformas também tratadas com este modificador e utilizadas na determinação de Al por 50, 100, 150, e 200 ciclos de aquecimento (Figura 50a). Todas as plataformas foram caracterizadas pela presença do Zr (Figura 50b) em toda a extensão das plataformas (Figura 50c). Estas mesmas plataformas formaram um grande agrupamento na Figura 43 (PCA de imagens para o Al) e na Figura 46 (PCA de imagens para todas as plataformas).

A Tabela 15 resume todas as informações extraídas do PARAFAC, incluindo as posições nas plataformas que foram responsáveis pelas determinações de Al, Cd e Pb. Como pode ser observado, o processo de atomização ocorreu, preferencialmente, nas laterais para o Cd e no centro para o Pb. Estes elementos apresentaram baixas temperaturas de atomização (Cd e Pb – plataformas números 9-12).

Esta característica pode explicar a separação prévia observada na PCA de imagens. Entretanto, quando o Al (plataformas números 2-8) foi considerado, estes processos ocorreram em posições diferentes na superfície do atomizador, dependendo do número de ciclos de aquecimento e do modificador. Para as plataformas utilizadas por 500 ciclos de aquecimento (plataformas 7 e 8), os principais processos de atomização ocorreram preferencialmente no centro (plataforma tratada com Mg – número 8). Por outro lado, as plataformas de números 2-6 (0, 50, 100, 150 e 200 ciclos de aquecimento) apresentaram um comportamento muito similar entre elas, onde o Zr foi igualmente distribuído em toda a extensão dos atomizadores. Além disso, como as temperaturas de atomização para estas plataformas foram altas (2400°C), a agitação do sistema pode ter aumentado e,

desta forma, contribuído para os processos de difusão dos elementos. Este tipo de difusão depende do modificador. Por exemplo, o Zr foi eficiente na eliminação do Ca, porém o Mg não.

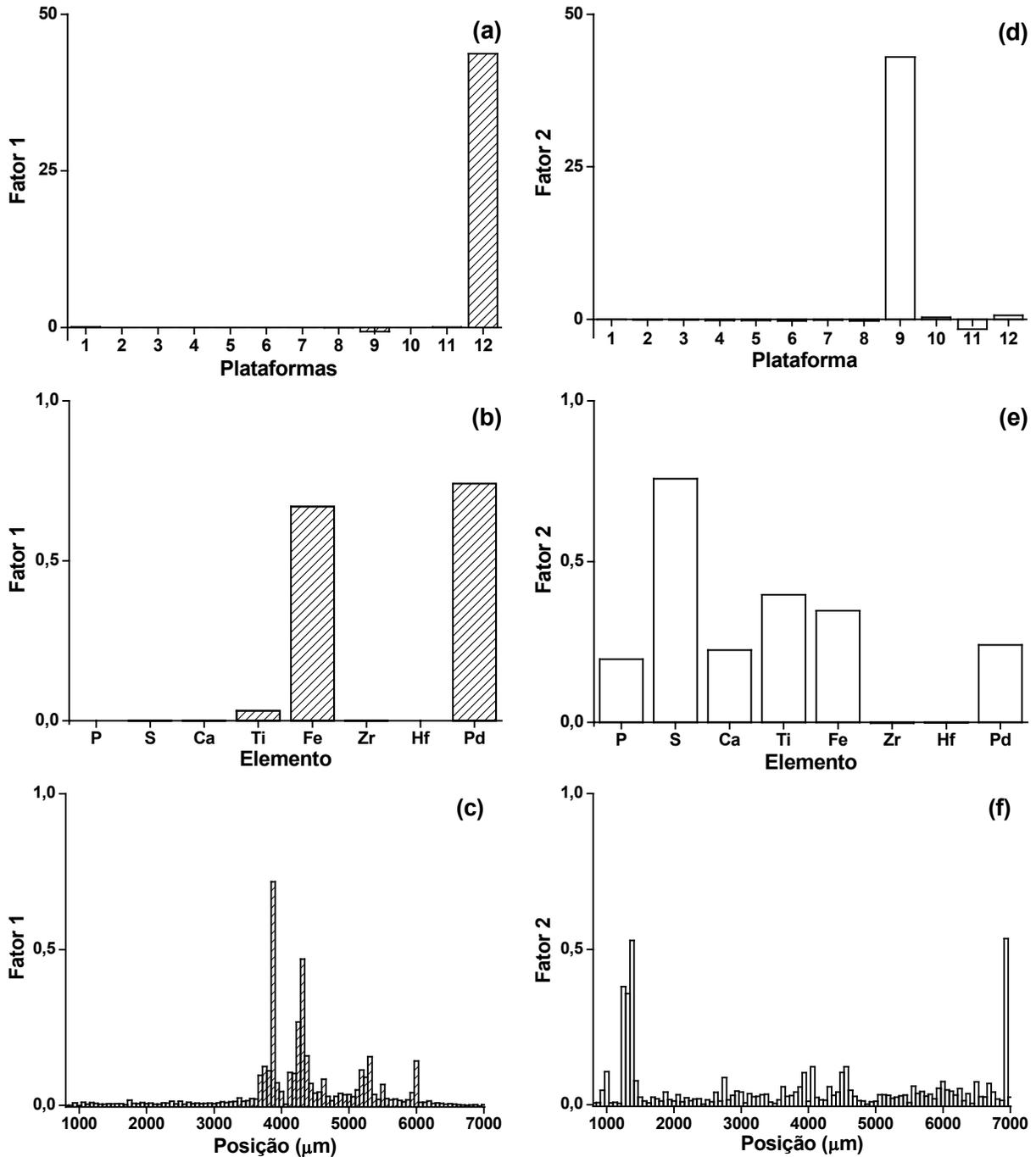


Figura 47: Resultados encontrados com o PARAFAC para os fatores 1 e 2 (a, d – plataformas; b, e – elementos; c, f – posição da varredura).

Com os dados apresentados na Tabela 15, temos que as plataformas tratadas com modificadores químicos convencionais (8, 9 e 12 – ver Tabela 14) apresentaram sinais para o Ca, Fe, Pd, P, S e Ti. Além disso, as plataformas 9 e 12 (empregadas na determinação de Cd e Pb, respectivamente) apresentaram um número maior de elementos residuais do que a plataforma 8 (tratada com Mg e utilizada na determinação de Al). Esta diferença pode estar correlacionada a dois fatores: o primeiro seria relativo às temperaturas de pirólise e atomização utilizadas e o segundo, ao tipo de modificador. A plataforma 9 apresentou 5 elementos residuais (determinação de Cd – temperaturas de pirólise e atomização iguais a 500 e 1500°C) e as plataformas 12 e 8 apresentaram Fe e Ca, respectivamente, as quais foram empregadas na determinação de Pb e Al, respectivamente.

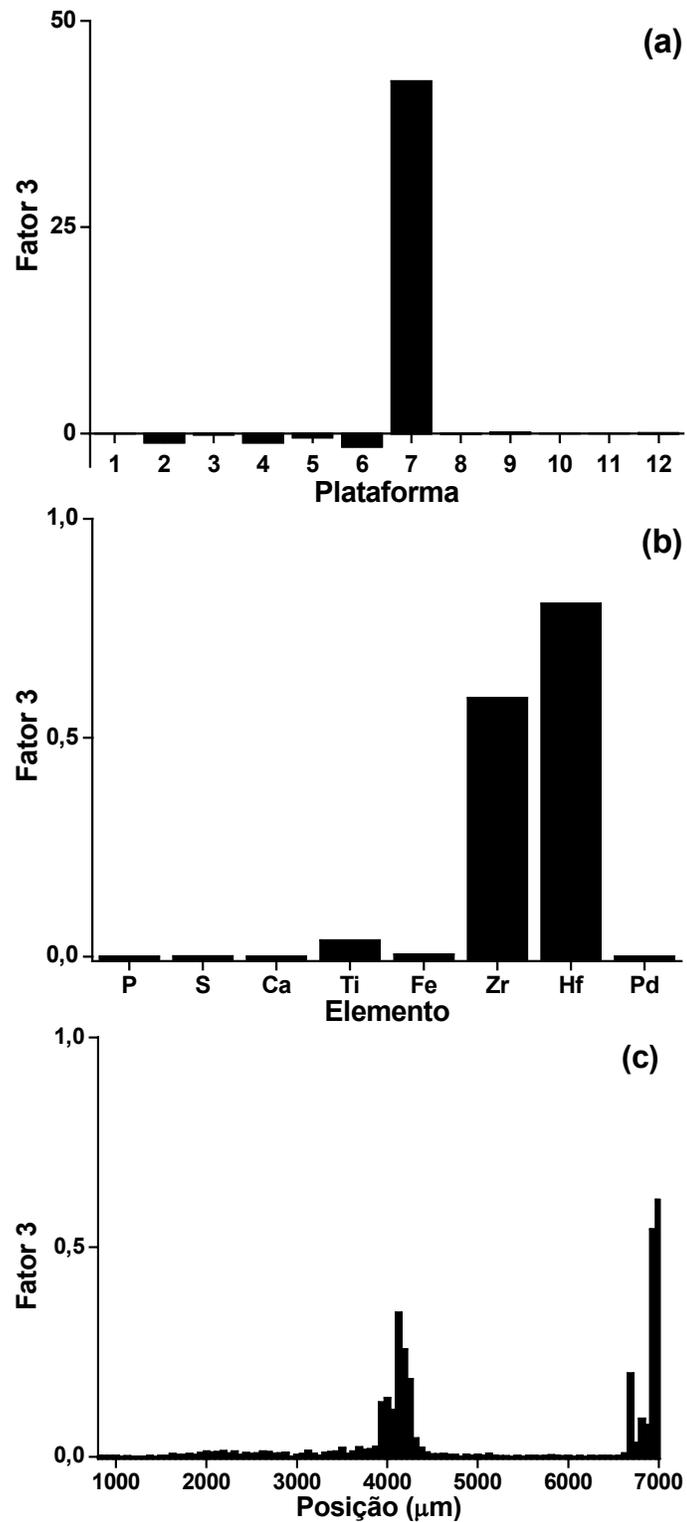


Figura 48: Resultados encontrados com o PARAFAC para o fator 3 (a – plataformas; b – elementos; c – posição da varredura).

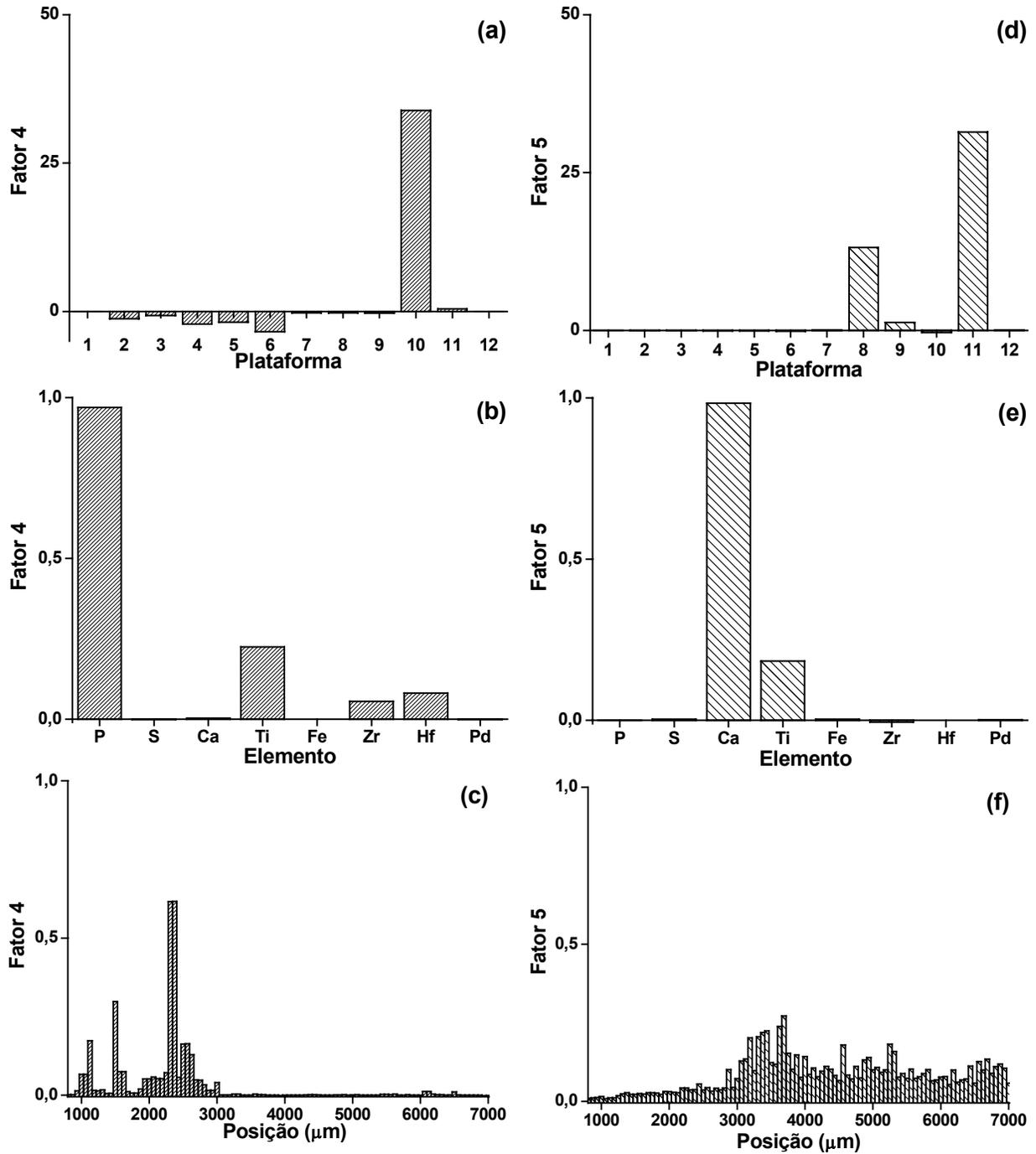


Figura 49: Resultados encontrados com o PARAFAC para os fatores 4 e 5 (a, d – plataformas; b, e – elementos; c, f – posição da varredura).

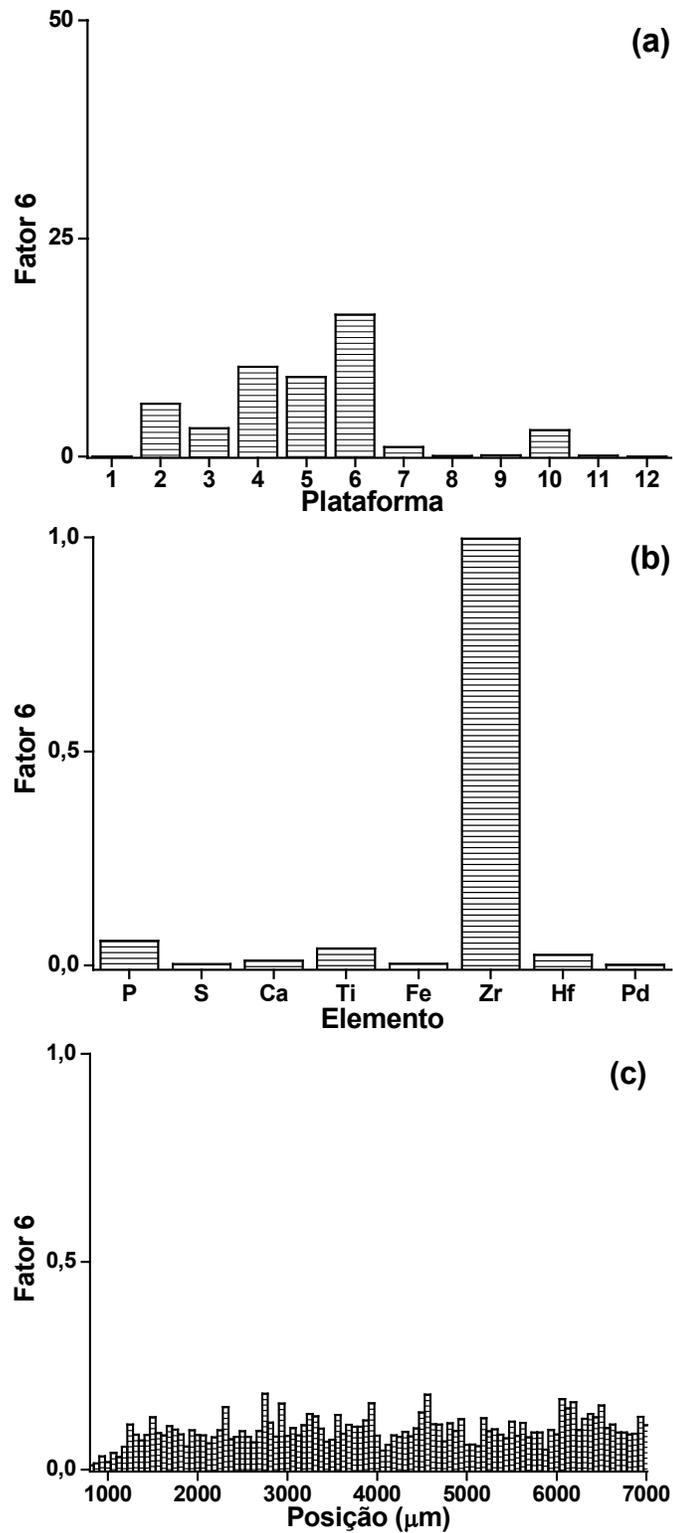


Figura 50: Resultados encontrados com o PARAFAC para o fator 6 (a – plataformas; b – elementos; c – posição da varredura).

Tabela 15: Resumo das informações extraídas do PARAFAC.

<b>Fator/ variância explicada (%)</b>	<b>Plataforma modelada</b>	<b>Elementos com maior influência</b>	<b>Região mais influenciada da plataforma</b>	<b>Observações</b>
1 / 18,6	12	Fe e Pd	centro	Apesar da presença de Pd do modificador convencional, este metal não foi eficiente na eliminação do Fe.
2 / 18,0	9	P, Ca, Pd, Fe, Ti e, principalmente, S	laterais	S, P, Ca e Fe foram, provavelmente, oriundos da amostra na forma de suspensão.
3 / 17,8	7	Hf e Zr	centro e lado direito	Plataforma usada na determinação de Al com 500 ciclos de aquecimento
4 / 11,4	10	Ti e, principalmente, P	lado esquerdo	P é, provavelmente, originado da amostra de fígado bovino
5 / 11,3	8 e 11	Ti e, principalmente, Ca	centro e lado direito	Mg e Pd+Mg, modificadores convencionais, não foram eficazes na eliminação do Ca. Como previamente indicado pela PCA de imagens, a parte central da plataforma 8 possuiu um comportamento diferenciado.
6 / 5,0	2-6 e 10	Zr	todas as partes	Como observado pela PCA de imagens e confirmado pelo PARAFAC, estas plataformas possuem o mesmo comportamento.

As plataformas tratadas com Zr 2 – 6 (ver Tabela 14) apresentaram o Zr distribuído praticamente em todas as partes da plataforma. A plataforma 7 em especial, apresentou 2 pontos de maior sinal do Zr. A plataforma 11 (determinação de Pb e Zr como modificador permanente) apresentou sinais baixíssimos para o Zr, e os dados levantados na  $\mu$ SRXRF indicam que houve algum tipo de substituição do Zr pelo Ti.

A plataforma 10 (determinação de Cd e com Zr modificador permanente) foi utilizada por um número 5 vezes maior de ciclos de aquecimento do que a plataforma 9 (modificador convencional), e mesmo sob estas condições severas de uso apresentou um número menor de elementos residuais.

#### 4.5. TERMOGRAVIMETRIA

Nas análises termogravimétricas foi verificada uma esperada diferenciação entre a plataforma nova – plataforma 1 (sem nenhum tratamento) e as demais plataformas utilizadas nas determinações. A Figura 51 mostra algumas curvas termogravimétricas (linhas contínuas) e suas derivadas (linhas pontilhadas) para as plataformas novas e tratadas com Zr e Pd + Mg. Ao se comparar as curvas termogravimétricas, excetuando-se a plataforma nova (Figura 51a), não foi percebida qualquer diferença entre as mesmas. Por outro lado, analisando-se as derivadas obtidas das curvas termogravimétricas da plataforma nova e recoberta com Zr – plataforma 2 (Figura 51b) e da plataforma tratada com Zr e utilizada por 500 ciclos de aquecimento (Figura 51c) na determinação de Al – plataforma 7, percebe-se um comportamento semelhante na faixa de temperatura até 400°C.

Com a finalidade de efetuar uma análise exploratória dos dados obtidos, foi realizada uma PCA das derivadas das curvas termogravimétricas. Com esta ferramenta quimiométrica, notou-se uma separação entre as plataformas que foram utilizadas com modificadores químicos permanentes e convencionais da plataforma nova (plataforma 1 – ver Tabela 14). A plataforma totalmente nova apresentou uma diferenciação marcante das demais plataformas, e as variações ocorridas nas análises termogravimétricas estavam, preferencialmente, relacionadas com as temperaturas mais altas (651 a 966°C). As plataformas tratadas com modificadores convencionais e permanentes estavam relacionadas com as temperaturas de 30 a 330°C e de 331 a 650°C, respectivamente.

A plataforma nova foi retirada e a PCA foi novamente aplicada. Desta vez, notou-se uma separação entre as plataformas tratadas de modo convencional com aquelas tratadas com Zr. A Figura 52 mostra os gráficos dos *scores* (a) e dos *loadings* (b) para o PC1 da PCA aplicada. Ao se analisar estes dois gráficos temos que as plataformas tratadas com modificadores convencionais (8, 9 e 12 – colunas com quadrados) apresentaram maiores transições na massa em temperaturas de 30 a 650°C – ver área com quadrados na Figura 52b. Este fato indica que, na perda de massa, podem ter sido liberadas substâncias voláteis, e no ganho podem ter ocorrido

re-combinações. Já a maioria das plataformas tratadas com Zr (colunas com linhas horizontais) apresentou transições de massa em temperaturas mais altas – ver área com linha horizontais na Figura 52b.

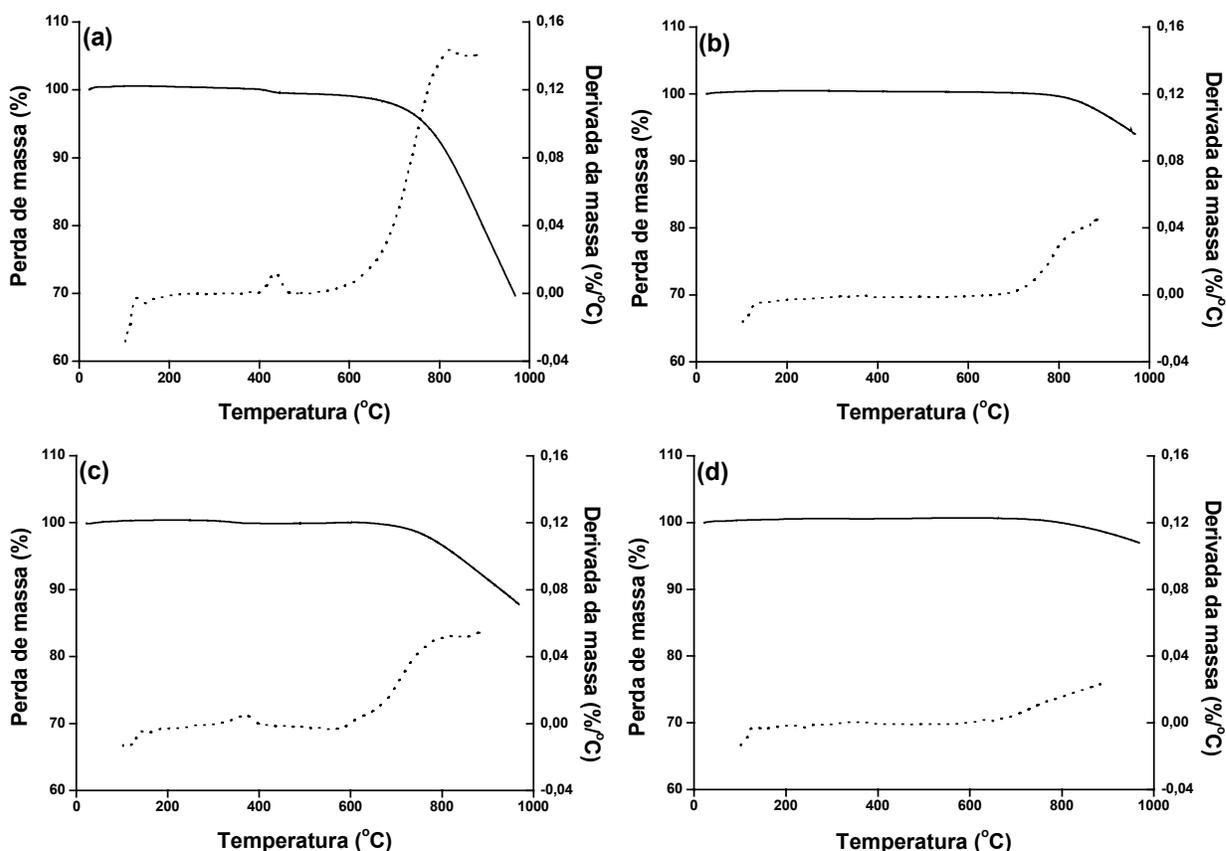


Figura 51: Curvas termogravimétricas (linhas contínuas) e derivadas (linhas tracejadas) para as plataformas: nova – plataforma 1 (a), nova e tratada com Zr – plataforma 2 (b), tratada com Zr e utilizada na determinação de Al por 500 ciclos de aquecimento – plataforma 7 (c) e tratada com Pd+Mg e utilizada na determinação de Cd – plataforma 9 (d).

Novamente, estas constatações vêm a contribuir para a informação de que os processos de atomização são diferentes para os modificadores permanentes e convencionais.

A plataforma nova (plataforma 1) e aquela tratada com Zr e utilizada por 500 ciclos de aquecimento na determinação de Al (plataforma 7) foram submetidas a um estudo ainda mais criterioso. Nestas duas plataformas foram feitas análises termogravimétricas para a parte inicial, meio e final. No caso da plataforma nova, não foi observada qualquer diferença entre as partes distintas. Já a plataforma utilizada por 500 ciclos apresentou a parte inicial e a do meio muito parecidas entre si e a

parte final totalmente diferenciada. Estas observações contribuem para a afirmação de que, além de haver diferentes processos de atomização para diferentes modificadores, podem existir diferentes processos ou cinéticas na atomização para diferentes partes da mesma plataforma. A Figura 53 mostra as curvas termogravimétricas para as partes central e final da plataforma tratada com Zr.

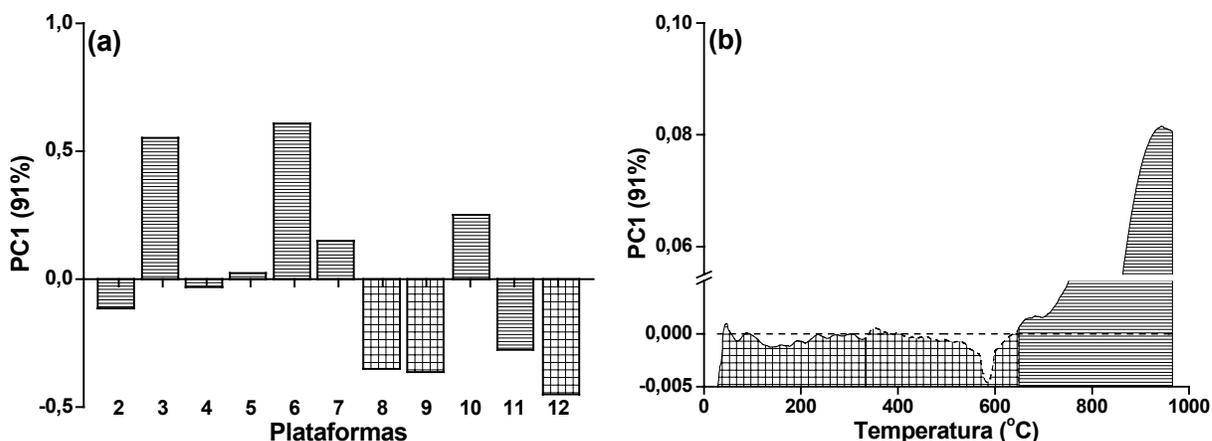


Figura 52: Resultado da PCA efetuada com as derivadas das curvas termogravimétricas. Em (a) temos o gráfico dos *scores*, onde os números identificam as plataformas (mesma numeração utilizada na Tabela 14). As colunas com linhas horizontais e quadrados representam as plataformas tratadas com Zr e modificadores convencionais, respectivamente. Em (b) temos o gráfico dos *loadings*, onde a área com quadrados compreende a faixa de temperatura de 30 a 650°C e a área com linhas horizontais a faixa de 651 a 966°C.

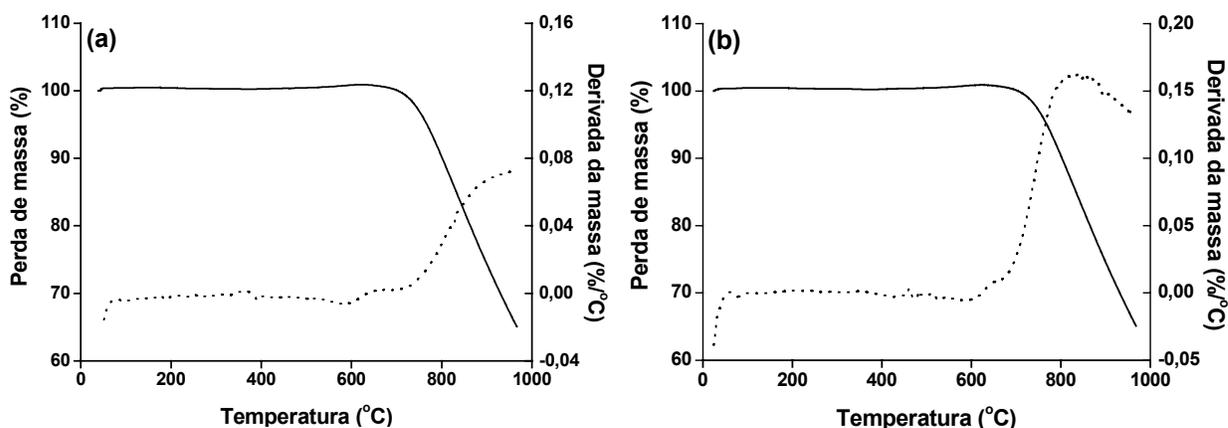
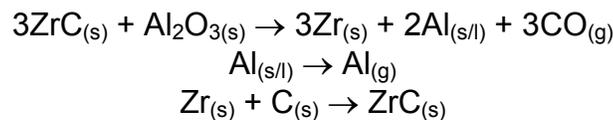


Figura 53: Curvas termogravimétricas (linhas contínuas) e derivadas (linhas tracejadas) das partes: central (a) e final (b) da plataforma tratada com Zr e utilizada na determinação de Al por 500 ciclos de aquecimento – plataforma 7 (Tabela 14).

#### 4.6. PROPOSTA DE POSSÍVEIS MECANISMOS DE ATOMIZAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE Al

A sugestão ou proposta de mecanismo de atomização não é uma tarefa fácil. Entretanto, neste terceiro capítulo, uma proposta para um possível mecanismo de atomização do Al tendo o Zr como modificador químico permanente será apresentada. Esta proposta baseia-se nos resultados experimentais obtidos com as varreduras com micro fluorescência de raios-X e análises termogravimétricas, tratados com PCA de imagens, PARAFAC, e dados coletados da literatura recente.

Em um trabalho recente, Ni e De-qiang [38] propuseram um mecanismo de atomização, sendo que o Zr foi empregado como modificador químico permanente na determinação de Ge. Ao fazer um paralelo com a determinação de Al, pode-se chegar ao seguinte mecanismo de atomização:

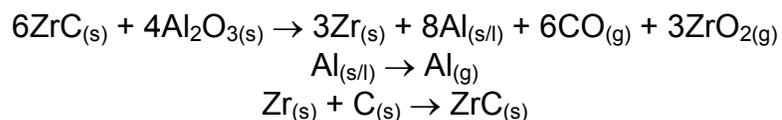


No mecanismo proposto, o Zr, na forma de carbeto, promove a redução do Al. A participação do Zr como carbeto neste mecanismo é contraditória, pois este composto é extremamente estável, com pontos de fusão e ebulição da ordem de 3540 e 5100°C, respectivamente [39]. Por outro lado, Constantini *et al.* [40], descreveram que o carbeto de Zr aumenta a sensibilidade e reprodutibilidade na determinação de Al em amostras de soro. Devido ao fato de o Zr estar distribuído (mesmo que de forma heterogênea) nas plataformas de L'vov, e da amostra empregada neste estudo (leite em pó) apresentar uma quantidade considerável de carbono, é prudente afirmar que o ZrC pode ser formado e que este, provavelmente, participa do mecanismo de atomização do Al. Retornando ao mecanismo proposto, nas equações mostradas anteriormente, o ZrC promove a redução do Al e na terceira etapa, o Zr que participou desta etapa retorna à forma original de carbeto.

Este mecanismo é suficientemente completo para explicar a perda de massa apresentada pelas plataformas de L'vov (ver seção 4.1 e Figura 18 do segundo

Capítulo), entretanto, ao se observar os resultados das varreduras (Figuras de 23 a 25), percebe-se que há, também, um consumo de Zr. Na plataforma com 500 ciclos de aquecimento (plataforma 7), verificou-se que este consumo está, preferencialmente, localizado no ponto onde a amostra é depositada (ver resultados com a PCA de imagens e Figuras 25 e 26). Neste sentido, uma nova etapa deve ser inserida no mecanismo proposto anteriormente para tentar explicar o consumo de Zr. Esta situação já foi comprovada pela varredura com micro sonda de fluorescência de raios-X. A PCA de imagens e o PARAFAC mostraram que a parte central da plataforma tratada com Zr e com 500 ciclos de aquecimento apresentava um comportamento distinto das demais partes da plataforma.

Esta nova etapa para tentar explicar o consumo de Zr, provavelmente, deve ser devida à formação de óxido, pois o óxido de Zr possui temperaturas de fusão e ebulição da ordem de 2700 e 4300°C [41]. Além deste fato, Stetter *et al.* [42] confirmaram que o ZrO é volatilizado em temperaturas compreendidas entre 2200 e 2400°C, e De Giglio *et al.* [43] encontraram óxidos de Zr e W quando estes metais foram empregados como modificadores químicos permanentes. O novo mecanismo de atomização poderia ser:



Neste mecanismo, parte do  $\text{ZrC}_{(s)}$  é convertido em  $\text{Zr}_{(s)}$  e outra parte em  $\text{ZrO}_{2(g)}$ . O  $\text{Zr}_{(s)}$  é reaproveitado para a formação de  $\text{ZrC}_{(s)}$  e o  $\text{ZrO}_{2(g)}$  é perdido. Uma das limitações deste novo mecanismo está em prever se as formações de  $\text{Zr}_{(s)}$  e  $\text{ZrO}_{2(g)}$  são iguais durante todos os ciclos de aquecimento, ou ainda, se este mecanismo ocorre de maneira homogênea em todas as partes da plataforma. A última questão parece ser pouco provável, devido às duas aglomerações de Zr apresentadas na plataforma com 500 ciclos de aquecimento (Figuras 25 e 26). Retornando aos resultados da PCA de imagens, onde ficou evidenciado que a região central da plataforma com 500 ciclos de aquecimento e tratada com Zr apresenta

diferença das demais regiões, é possível afirmar que o segundo mecanismo ocorra preferencialmente ou com maior intensidade nesta região.

## 5. CONCLUSÃO PARCIAL

Tanto a PCA de imagens quanto o PARAFAC permitiram extrair informações sobre a morfologia e interações dos elementos em diferentes posições das plataformas de grafite. Com o PARAFAC foi obtida uma visão global das varreduras efetuadas com a  $\mu$ SRXRF. Quatro plataformas, 12, 9, 7 e 10 apresentaram comportamentos muito distintos, sendo diferentes entre elas, e foi necessário um fator para cada uma. O Fator 5 demonstrou que as plataformas 8 e 11 apresentaram um comportamento muito similar, sendo caracterizadas por Ca e, em uma menor extensão, pelo Ti. Finalmente, o fator 6 modelou a correlação das plataformas de 2-6 com o Zr.

Com estas duas ferramentas quimiométricas foi observada uma boa correlação entre a morfologia e os elementos residuais encontrados na superfície. As análises termogravimétricas somadas às informações da PCA de imagens e PARAFAC contribuíram para a conclusão de que diferentes processos de atomização ocorreram em diferentes posições da mesma plataforma.

Este tipo de estudo pode abrir um campo vasto para análises exploratórias de plataformas de L'vov em ETAAS. Com os resultados deste terceiro capítulo, foi mostrado que as velocidades de atomização são diferentes e dependem da posição, modificador, amostra e analito.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] Balaban, R.S.; Kurtz, I.; Cascio, H.E.; Smith, P.D., *J. Microsc-Oxford*, 1986, **141**, 31.
- [2] Turner, D.W.; Plummer, I.R.; Porter, H.Q., *J. Microsc-Oxford*, 1984, **136**, 259.
- [3] Geladi, P.; Wold, S.; Esbensen, K., *Anal. Chim. Acta*, 1986, **191**, 473.
- [4] Van Espen, P.; Janssens, G.; Vanhoolst, W.; Geladi P., *Analisis*, 1992, **20**, 81.
- [5] Geladi, P.; Esbensen, K., *J. Chemometrics*, 1989, **3**, 419.
- [6] Geladi, P.; Isaksson, H.; Lindqvist, L.; Wold, S.; Esbensen, K., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1989, **5**, 209.
- [7] Geladi P, Grahn H., **Multivariate Image Analysis**, Chichester: John Wiley & Sons, 1996.
- [8] Castleman K R., **Digital Image Processing**, Englewood Cliffs: Prentice-Hall, Inc., 1979.
- [9] Geladi, P.; Bengtsson, E.; Esbensen, K.; Grahn, H., *Trends Anal. Chem*, 1992, **11**, 41.
- [10] Geladi, P., *Chemometr. Intell. Lab.*, 1992, **14**, 375.
- [11] Skarpeid, H. J.; Moe, R. E.; Indahl, U. G., *Meat Sci.*, 2001, **57**, 227.
- [12] Shu, X.; Qiu, Y., Kuang, D., *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt.*, 1999, **3868**, 460.
- [13] Huang, J.; Esbensen, K. H., *Chemometr. Intell. Lab.*, 2000, **54**, 1.
- [14] Huang, J.; Esbensen, K. H., *Chemometr. Intell. Lab.*, 2001, **57**, 37.
- [15] Esbensen, K.; Geladi, P., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1989, **7**, 67.
- [16] Esbensen, K. H.; Geladi, P. L.; Grahn, H. F., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1992, **514**, 357.
- [17] Smilde, A.K., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1992, **15**, 143.
- [18] Moberg, L.; Robertsson, G.; Karlberg, B., *Talanta*, 2001, **54**, 161.
- [19] da Silva, J.C.G.E.; Leitão, J.M.M.; Costa, F.S.; Ribeiro, J.L.A., *Anal. Chim. Acta*, 2002, **453**, 105.
- [20] Hindmarch, P.; Kavianpour, K.; Brereton, R.G., *Analyst*, 1997, **122**, 871.
- [21] Nilsson, J.; de Jong, S.; Smilde, A.K., *J. Chemom.*, 1997, **11**, 511.
- [22] Wise, B.M.; Gallagher, N.B.; Butler, S.W.; White, D.D.; Barna, G.G., *J. Chemom.*, 1999, **13**, 379.
- [23] Leardi, R.; Armanino, C.; Lanteri, S.; Alberotanza, L., *J. Chemom.*, 2000, **14**, 187.
- [24] Bro, R., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1997, **38**, 149.
- [25] Bro, R., **Multi-way Analysis in the Food Industry**, Ph.D. thesis, Amsterdam, 1998.
- [26] P.M. Kroonenberg, **Three Mode Principal Component Analysis: Theory and Applications**, Leiden: DSWO, 1983.
- [27] Bro, R., *J. Chemom.*, 1996, **10**, 47.
- [28] Munck, L.; Norgaard, L.; Engelsen, S.B.; Bro, R.; Andersson, C.A., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 1998, **44**, 31.
- [29] Marcos, A.; Foulkes, M.; Hill, S.J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, **16**, 105.
- [30] Moreda-Piñeiro, A.; Marcos, A.; Fisher, A.; Hill, S.J., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, **16**, 360.
- [31] Brown, M. E., *Introduction to Thermal Analysis – Techniques and Applications*, Londres: Chapman and Hall, 1988.

- [32] Charsley, E. L.; Warrington, S. B., *Thermal Analysis – Techniques and Applications*, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992.
- [33] Santos, D. M.; Luccas, P. O.; Nóbrega, J. A.; Cavalheiro, E. T. G., *Thermochim. Acta*, 2000, **362**, 161.
- [34] Galbács, G.; Vanhaecke, F.; Moens L.; Dams R., *Microchem. J.*, 1996, **54**, 272.
- [35] Andersson, C.A.; Bro, R., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 2000, **52**, 1.
- [36] Kokot, S.; Yang, P., *Anal. Chim. Acta*, 1995, **304**, 297.
- [37] Kokot, S.; Yang, P.; Gilbert, C., *Anal. Chim. Acta*, 1996, **332**, 105.
- [38] Ni, Z. M.; Zhang, D. Q., *Spectrochim. Acta Part B*, 1995, **50**, 1779.
- [39] Volynsky, A. B., *Spectrochim. Acta Part B*, 1998, **53**, 509.
- [40] Constantini, S.; Giordano, R.; Vernillo, I., *Microchem., J.*, 1984, **30**, 425.
- [41] Lange, N. A., **Handbook of chemistry**, New York: McGraw-Hill Book Company, 1969.
- [42] Stetter, F.; Esselborn, R.; Harder, N.; Friz, M.; Tolles, P., *Appl. Optics*, 1976, **15**, 2315.
- [43] De Giglio, E.; Sabbatini, L.; Lampugnani, L.; Slaveykova, V. I.; Tsalev, D. L., *Surf. Interface Anal.*, 2000, **29**, 747.

---

---

## CAPÍTULO 4

### APLICAÇÃO DE TS-FF-AAS NA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu E Pb EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS NA FORMA DE SUSPENSÕES

Parte das informações deste capítulo foram publicadas nos seguintes artigos científicos:

Pereira-Filho, E. R.; Berndt, H.; Arruda, M. A. Z.. Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, **17**, 1308.

Pereira-Filho, E. R.; Arruda, M. A. Z.. Atomização com chama e eletrotérmica: (re) apresentando alternativas. *Anais da Associação Brasileira de Química*, no prelo.

Pereira-Filho, E. R.; Pérez, C. A.; Arruda, M. A. Z.. Emprego de microfluorescência de raios-X na investigação da distribuição de metais na superfície de um tubo de Ni empregado na técnica do spray térmico com tubo na chama. *Avances en análises por técnicas de rayos X*, submetido para publicação.

---

---

## 1. OBJETIVOS

Os objetivos deste quarto capítulo estão voltados em apresentar os resultados obtidos em um estágio (Maio a Novembro de 2001) realizado no Institute of Spectrochemistry and Applied Spectroscopy (ISAS - Dortmund/Alemanha) sob a supervisão do Prof. Dr. Harald Berndt.

No desenvolvimento dos trabalhos no ISAS os objetivos principais estavam voltados para a análise de amostras de alimentos, tais como, fígado bovino, leite, carnes entre outras, na forma de suspensões, bem como no uso de modificadores químicos permanentes na técnica TS-FF-AAS. Os metais determinados foram Cd, Cu e Pb. Conseqüentemente, foi também objetivo deste capítulo a transferência dos conhecimentos adquiridos na Alemanha para grupos de pesquisa no Brasil.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na literatura são encontradas diversas alternativas para o aumento da sensibilidade da FAAS. Um dos trabalhos pioneiros foi proposto em 1970 por Delves [1]. Neste trabalho foi apresentada a utilização de um copo metálico: copo de Delves. O copo de Delves apresenta algumas vantagens, tais como, a amostra pode ser preparada no próprio copo metálico, reduzindo problemas com contaminação e as medições são rápidas (aproximadamente de 8 a 15 s) [2]. Na alternativa proposta por Delves [1], em copo de Ni (10 mm de d.e., 5 mm de altura e 7 mm de d.i.) uma amostra de sangue era depositada juntamente com peróxido de hidrogênio. Após um curto tempo para oxidação parcial da amostra, o copo era movimentado para um espaço situado entre uma chama de ar e acetileno e um tubo de Ni. O copo era posicionado imediatamente abaixo de um orifício do tubo de Ni (10 cm de comprimento, 12,5 mm de d.e. e espessura igual a 1,5 mm). Com este sistema foi determinado Pb e, os resultados apresentaram um RSD de 5,7 a 15,3 % e o volume de amostra (sangue) foi apenas de 10  $\mu$ L.

No que se refere ao copo de Delves o tubo metálico tem sido substituído por outras alternativas, tais como, quartzo, sílica fundida, alumina fundida e cerâmica [3].

Ward *et al.* [4] investigaram a possibilidade do emprego do copo de Delves em combinação com uma chama de óxido nitroso e acetileno verificando uma redução significativa dos efeitos de interferentes na determinação de cinco metais: Ag, Cd, Cu, Pb e Zn.

Matusiewicz [3] apresentou uma recente e abrangente revisão sobre técnicas para aumentar a sensibilidade da FAAS. A primeira técnica é a caracterizada pela utilização de um tubo de quartzo longo para aprisionar átomos provenientes de uma chama (LPAT). O formato deste tubo pode ser linear ou na forma de um “T”. Esta técnica não foi explorada comercialmente apesar de bons resultados encontrados por alguns pesquisadores [5]. As aplicações da LPAT variam desde a determinação de Co e Cr em materiais geológicos [6] até a determinação Cd em urina e sangue [7].

Uma outra alternativa para aprisionar átomos na chama é o emprego de tubos com aberturas posicionadas no percurso da chama de ar e acetileno (STAT) [3]. A STAT apresenta bons resultados para metais voláteis, tais como, Ag, As, Bi, Cd, Sb, Se e Sn, com um aumento de sensibilidade variando de 2 a 5 vezes ao se comparar com FAAS. Tubos de quartzo têm sido empregados como aprisionadores, entretanto, este material apresenta algumas limitações como, por exemplo, baixa vida útil, principalmente quando amostras com altas concentrações de metais alcalinos são nebulizados. As dimensões dos tubos variam muito e dependem do equipamento empregado nas determinações. Na literatura são encontrados tubos com d.i. variando de 4 a 15,5 mm, e comprimentos de 120 a 150 mm, a largura das aberturas varia de 1 a 3 mm e o comprimento varia de 50 a 115 mm para a abertura inferior e de 30 a 110 mm para a abertura superior. Existe, também, a possibilidade de se trabalhar com apenas uma abertura na parte inferior do tubo.

Um outro conceito em técnicas de pré-concentração é o emprego de aprisionamento *in situ* de átomos. Nesta técnica um tubo é posicionado sobre o queimador e a alguns milímetros abaixo do feixe gerado pela lâmpada de cátodo oco [3]. O tubo é constantemente refrigerado com água (WCAT) enquanto que a amostra é introduzida *via* nebulizador. Desta forma, os átomos do analito ou seus precursores são condensados no tubo refrigerado. Após alguns minutos a água é desligada e um sinal transiente é coletado. Outras alternativas são possíveis como, por exemplo,

empregar dois tubos, um sobre o outro, [8] ou um ao lado do outro [9]. No primeiro caso o tubo na posição inferior é sempre mantido refrigerado e da posição superior é refrigerado (coleta dos átomos do analito) e aquecido (obtenção do sinal analítico). No segundo caso ambos tubos são empregados para coletar os átomos do analito.

Na literatura são encontrados diferentes termos para o processo de aprisionamento dos analitos na superfície refrigerada, sendo comum encontrar o termo “átomos acumulados” [10] e “átomos aprisionados” [3, 8].

Outras possibilidades são encontradas, tais como, a proposta por Alvarado e Jaffé [11] onde os autores apresentaram uma engenhosa alternativa para a atomização de amostras sólidas em chama. Neste trabalho, foi proposta a atomização de amostras sólidas em um tubo de grafite em uma chama (TIF). A amostra foi preparada misturando-se 300 mg de amostra sólida em 100 mL de água, posteriormente a suspensão foi filtrada, e a amostra sólida retida no filtro. Com o auxílio de uma ferramenta especial foram recortados círculos com 3,2 mm de diâmetro do filtro com a amostra impregnada. Após secagem, o pequeno círculo foi introduzido cuidadosamente no tubo de grafite, e posteriormente na chama de ar/acetileno. Entre cada determinação o tubo era retirado da chama, resfriado e limpo com o auxílio de um jato de ar. Com o sistema, foi determinado Pb em amostras de sedimento.

## 2.1. SPRAY TÉRMICO

O emprego de spray térmico na introdução de amostras em um forno metálico aquecido (TS-FF-AAS) por uma chama (ar e acetileno) foi inicialmente proposto por Gáspár e Berndt, em 2000 [12]. Entretanto, foi primeiramente proposto o uso de um fino jato de amostra introduzido diretamente no forno metálico (BIFF-AAS) [13]. No BIFF-AAS um jato de amostra é formado com o auxílio de pequeno *nozzle* e “voa” cerca de 10 cm até o interior do forno metálico quente. No interior deste forno ocorre um fenômeno descrito pelos autores como uma nebulização por impacto - JIN. Os autores investigaram diversos parâmetros e mediram uma temperatura de 1050°C no tubo metálico (Ni puro). O tempo de residência dos átomos na chama foi de aproximadamente 60 ms e os limites de detecção para 17 elementos (Ag, As, Au, Bi,

Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn) foram melhorados da ordem de 6 (As) a 202 (Hg) vezes, quando comparado com FAAS.

Ainda em 2000 Gáspár e Berndt [12] propuseram o TS-FF-AAS, onde um capilar metálico ou cerâmico foi empregado na introdução das amostras no interior do forno. Desta forma, foi possível obter tempos de residência da ordem de 160 ms (contra  $\leq 10$  ms da FAAS).

O spray térmico é empregado, principalmente, na introdução de amostras em ICP OES e ICP-MS. Neste caso, a passagem da amostra líquida é forçada através de um tubo capilar de aço aquecido para vaporizar o solvente, resultando em um vapor que converte o líquido remanescente em gotas [14-16].

Na técnica proposta por Gáspár e Berndt [12] o capilar possui cerca de 10 cm e a própria chama (ar e acetileno) de um espectrômetro de absorção atômica é utilizada para formar o spray térmico. Desta forma, a TS-FF-AAS configura-se como uma técnica extremamente atraente para a determinação de metais com alta e média volatilidade.

Na chama de ar e acetileno foram testados diversos materiais na configuração do forno, tais como, super ligas, Ni e cerâmicas. Na parte inferior do tubo foram efetuados alguns furos para permitir a entrada parcial da chama no interior do atomizador e foram medidas temperaturas de aproximadamente 1000°C. Os autores testaram, ainda, o material do capilar do spray térmico: aço, Ti, cerâmica e ligas de Pt e Ir. O fluxo do carregador e o d.i. do capilar influenciam severamente no desempenho das determinações. Os autores relataram que o d.i. do capilar é inversamente proporcional à intensidade dos sinais analíticos, pois maiores diâmetros proporcionam gotas maiores com conseqüente diminuição da sensibilidade. O aumento do fluxo do carregador proporciona o surgimento de um efeito de resfriamento do tubo com queda da sensibilidade. No trabalho realizado os autores estudaram cinco metais (Cd, Cu, Hg, Pb e Tl) com aumento do poder de detecção (quando comparado com a FAAS) variando de 14 (Cu) até 67 (Hg) vezes. Tanto o TS-FF-AAS quanto o BIFF-AAS empregam sistemas em fluxo que podem ser configurados por diversos tipos de bombas. Nas duas técnicas podem ser

empregados tubos metálicos. A Figura 54 mostra a configuração das duas técnicas analíticas.

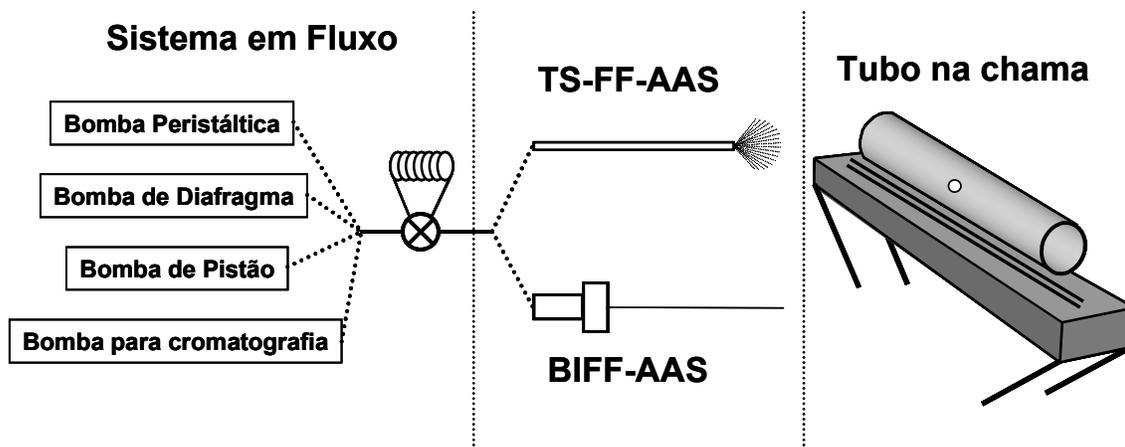


Figura 54: Configuração da TS-FF-AAS e BIFF-AAS. Em ambos os casos são utilizados sistemas em fluxo e um tubo na chama.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. MATERIAL

Os seguintes equipamentos foram utilizados no desenvolvimento desta etapa do trabalho:

- Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama marca Unicam, modelo SP-9 e equipado com corretor de deutério.
- Bomba de diafragma marca KNF Neuberger, modelo NF 1.30.
- Capilares cerâmicos marca Friatec. Diversos capilares cerâmicos foram empregados e foram utilizados os seguintes d. i./d.e.: 0,50/2,00, 0,55/2,55, 0,60/1,00, 0,80/1,20 e 1,00/2,00 mm.
- Válvula para introdução de amostra (4 caminhos – 6 portas), marca Alltech, modelo Rheodyne.
- Tubos de PEEK com diversas dimensões e d.i. e d.e. para construção das linhas de transmissão e configuração da bomba de diafragma.
- Na aquisição e tratamento dos sinais analíticos foi empregado um programa de computador para cromatografia líquida de alta eficiência, marca Knauer, versão 2.05.
- Banho de ultrassom marca Branson, modelo 5200.
- Estufa para secagem de amostras, marca Heralus, modelo T5042.
- Peneira com 100  $\mu$ m, marca Siebtechnik.
- Microscópio eletrônico de varredura marca JEOL, modelo JSM 6400.
- Agitador magnético marca Ikamag -RCT.
- Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 600, equipado com corretor Zeeman longitudinal, auto-amostrador modelo AS-800, e sonda ultra-sônica modelo USS-800.
- Lupa marca Carl Zeiss, modelo Stemi DV4, com aumento variando de 8 a 32 vezes.

- Software Axion Vision 3.0.6.20 para aquisição e tratamento de imagens, produzido pela Carl Zeiss.
- Máquina fotográfica digital, modelo DSC-S75 Cyber-shot, Marca Sony.

### 3.2. TUBOS METÁLICOS

No decorrer dos trabalhos foram testados tubos metálicos da marca J. & J. Ethen. Três tubos metálicos com d.i./d.e. de 10/12 e 8/10 mm foram empregados como atomizadores. Os nomes fantasia adotados pelo fabricante foram Ni 200 e 201 e MA956. O Quadro 6 mostra a composição destes tubos. Os tubos possuíam um orifício principal na parte frontal para introdução do capilar do spray térmico e alguns furos (geralmente 5 ou 6) na parte inferior para entrada parcial da chama no interior do mesmo.

Quadro 6: Composição (%) dos tubos atomizadores empregados na etapa de otimização. Para C, Si, Mn, P e S as concentrações indicadas são as máximas encontradas.

Nome comercial	Densidade g/cm	Ni	Cr	C	Si	Mn	S	Ti	Fe	Outros
Ni 200 e Ni 201	8,9	≥ 99,2	-	0,02 (201) 0,1 (200)	0,2	0,35	0,01	≤ 0,1	≤ 0,4	Cu ≤ 0,25 Mg ≤ 0,15
MA 956	7,3	-	20	-	-	-	-	0,5	74	Al 4,5 Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,5

As ligas de Ni puro têm boas propriedades mecânicas, e excelente resistência à corrosão em diversos meios. Adicionalmente, o Ni mantém a resistência mecânica até temperaturas relativamente elevadas e tem boa tenacidade, mesmo à baixa temperatura. O Ni 200 é o mais recomendado para operações de trabalho a frio, em função de sua menor dureza inicial. Tanto o Ni 200 como 201 têm boa condutividade térmica e elétrica. As aplicações se dão em equipamentos para indústrias de alimentos, componentes elétricos e eletrônicos, na indústria química, especialmente no manuseio de bases, componentes de mísseis e foguetes, fabricação de sabões, entre outras. O calor específico das ligas de Ni 200 e 201 é da ordem de 440 J/kgK, a resistividade elétrica é igual a 8,5 μohms/cm e o ponto de fusão compreende a faixa de 1435 a 1445°C [17].

A liga MA 956 é configurada para trabalhar em aplicações que envolvam altas temperaturas e ambientes corrosivos. Seu ponto de fusão é da ordem de 1482°C e possui maior resistência à oxidação quando comparada com as ligas de Ni puro [18,19].

### 3.3. REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes listados foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho e possuem grau analítico. Todas as soluções foram preparadas utilizando água destilada/deionizada.

- HNO<sub>3</sub> concentrado sub-ebulição. Marca Merck.
- Triton X-100. Marca Roth.
- Peróxido de hidrogênio 30% (v/v). Marca Merck.
- Soluções estoque de Cd, Cu e Pb (Titrisol) concentração 1000 mg/L. Marca Merck.
- Os seguintes sais (Merck) foram empregados nos testes com concomitantes: MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, NaCl, CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 3H<sub>2</sub>O, Mn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O, KCl e Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 9H<sub>2</sub>O.
- Oxidocloreto de zircônio (ZrOCl<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O). Marca Merck.
- Fosfato de amônio [(NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>]. Marca Merck.
- Metanol. Marca Merck.

Todas as soluções foram preparadas diariamente em água destilada/deionizada e acondicionadas em frascos de polietileno. A relação das soluções empregadas nesta parte do trabalho encontra-se a seguir:

- Soluções de HNO<sub>3</sub> concentrações 0,3, 1,0, 2,0 e 3,0 mol/L.
- Soluções padrão de Cd em concentrações iguais a 2, 4, 8, 10 e 12 µg/L.
- Soluções padrão de Cu em concentrações iguais a 50, 100, 200 e 250 µg/L.
- Soluções padrão de Pb em concentrações iguais a 40, 80, 100 e 120 µg/L.
- Nos testes com concomitantes (macroconstituintes) foram empregadas soluções estoques de Ca, K, Mg e Na em concentrações iguais a 5 % (m/v).
- Nos testes com concomitantes (microconstituintes) foram empregadas soluções estoques de Cu, Fe, Mn e Zn em concentrações iguais a 0,4% (m/v).
- Solução de Zr a 1% (m/v).
- Solução de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> a 0,15% (m/v).

### 3.4. AMOSTRAS

Na realização desta etapa do trabalho, as seguintes amostras certificadas foram empregadas:

- Espinafre (Spinach, SRM 1570).
- Folhas de Pomar (Orchard Leaves, SRM 1571).
- Folhas de Citros (Citrus Leaves, SRM 1572).
- Folhas de Tomate (Tomato Leaves, SRM 1573).
- Fígado Bovino (Bovine Liver, SRM 1577b).
- Rim de Porco (Pig Kidney, CRM 186).

Três amostras não certificadas de extrato de tomate também foram analisadas. Estas amostras foram secas em estufa a 60°C até massa constante,

moídas com o auxílio de almofariz e pistilo e peneiradas utilizando uma peneira de abertura igual a 100  $\mu\text{m}$ .

### 3.5. PREPARO DAS SUSPENSÕES

O uso de suspensões apresenta algumas limitações relacionadas à homogeneização e distribuição dos tamanhos de partículas [20,21]. Para minimizar estas limitações, o tratamento com ultra-som pode ser de grande valia.

Nos trabalhos deste quarto capítulo as suspensões foram preparadas empregando-se um banho de ultra-som para homogeneização. As suspensões foram preparadas utilizando-se  $\text{HNO}_3$  e suas concentrações finais variaram de 0,1 a 1,0% (m/v). As amostras certificadas apresentaram um tamanho de partícula menor ou igual a 100  $\mu\text{m}$ .

### 3.6 CONFIGURAÇÃO DO SISTEMA

Na configuração do sistema de trabalho empregou-se um espectrômetro de absorção atômica da marca Unicam com feixe simples e correção de fundo com lâmpada de deutério. Um suporte para os tubos atomizadores foi desenvolvido no próprio Instituto, e na aquisição dos dados empregou-se um *software* originalmente desenvolvido para coleta de dados cromatográficos.

O tubo de Ni foi posicionado no suporte de tal forma que o feixe de radiação proveniente da lâmpada de catodo oco passasse pelo seu interior. O acionamento da chama deve ser feito na ausência do tubo atomizador, evitando-se que o acetileno fique armazenado no seu interior e ocorram explosões [12]. Após o acionamento da chama de ar e acetileno o tubo atomizador era posicionado cuidadosamente sobre a chama com a ajuda de uma tenaz. O capilar do spray térmico era introduzido cerca de 2 ou 3 mm no interior do tubo atomizador.

### 3.7. BOMBA DE DIAFRAGMA

O sistema foi composto, também, por uma bomba de diafragma para promover o fluxo carregador. A utilização de bombas de diafragma em química analítica é uma prática muito recente. No caso específico deste trabalho, empregou-se uma bomba da marca KNF, modelo 1.30.

As bombas de diafragma apresentam algumas peculiaridades que serão discutidas a seguir, e com base no livro apresentado por Becker [22]. Elas se caracterizam pela simplicidade e baixo custo e não necessitam de lubrificação e manutenção. As bombas de diafragma são compostas por um diafragma posicionado entre o corpo principal da bomba e a câmara de movimentação, como mostra a Figura 55. O diafragma é conectado a um suporte, de tal forma que um mecanismo de rotação posicionado no interior da câmara de movimentação desloca-o em movimentos circulares fazendo com que o diafragma se flexione ascendente e descendente. No movimento ascendente o diafragma expulsa o líquido por meio da válvula de pressão (Figura 55a) e no movimento descendente, o diafragma promove a sucção do líquido (Figura 55b). O suporte e o mecanismo de rotação (motor pequeno – 12 volts) são conectados de forma excêntrica.

A bomba empregada neste trabalho possuía cerca de 10 cm de comprimento e permitia um fluxo constante e pulsante de aproximadamente 130 mL/min. Logicamente este fluxo alto e a pulsação são características indesejáveis para as finalidades analíticas propostas neste trabalho. Para contornar estes problemas, a bomba de diafragma foi conectada a uma garrafa de vidro (2 litros) contendo o carregador. O carregador foi constantemente re-circulado através de um capilar de PEEK com 11 cm de comprimento e 0,5 mm de d.i., reduzindo o fluxo para 100 mL/min (fluxo de circulação). Esta conexão oferecia uma resistência à passagem do carregador, produzindo uma pressão de aproximadamente 6 bar. No percurso do fluxo do carregador instalou-se uma conexão em “T” e um outro capilar de PEEK com 150 cm de comprimento e 0,13 mm de d.i.. Este segundo capilar oferecia uma resistência muito grande à passagem do carregador, fazendo com que o fluxo (fluxo analítico) fosse muito reduzido e a pressão obtida foi de 4 bar. Com esta combinação

dos capilares de PEEK obteve-se um fluxo analítico de 0,4 mL/min. Este fluxo pode ser calculado ou estimado empregando-se a expressão de Hagen-Poiseuille [23]:

$$\Delta P = \frac{128 \cdot V \cdot \eta \cdot l}{\pi \cdot d^4}$$

onde:  $\Delta P$  é a pressão do sistema em Pascal (1 bar = 100000 Pa),  $V$  é o fluxo em  $m^3/s$ ,  $\eta$  é a viscosidade dinâmica em Pa s (para a água a viscosidade dinâmica é igual a 0,001),  $l$  é o comprimento do capilar em metros e  $d$  é o seu d.i. em metros. Com o auxílio da expressão mostrada anteriormente, é possível efetuar diversas combinações dos capilares de PEEK para obter um determinado fluxo analítico.

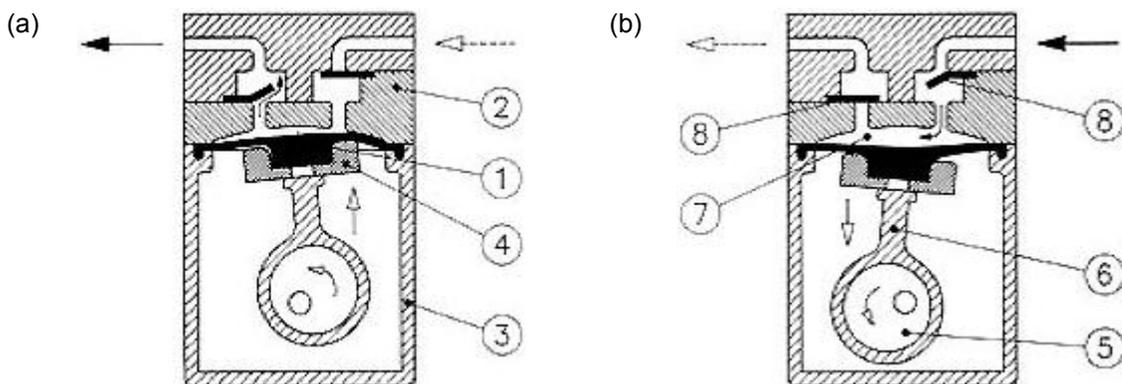


Figura 55: Bomba de diafragma, onde 1 é o diafragma, 2 é o corpo da bomba, 3 é a câmara de movimentação, 4 é o suporte do diafragma, 5 dispositivo de movimentação, 6 é a conexão entre o dispositivo de movimentação e o suporte do diafragma, 7 é o local de trabalho do diafragma e 8 são as válvulas de sucção e pressão. Em (a) e (b) temos a bomba expulsando e efetuando a sucção, respectivamente.

Na tubulação do fluxo de circulação foi posicionada uma pequena peça circular contendo em seu interior duas barras pequenas de espuma de polietileno. O fluxo de circulação era forçado a passar pelo interior desta peça, entrando em contato com as espumas e reduzindo a pulsação. A Figura 56 mostra todo o sistema após configuração.

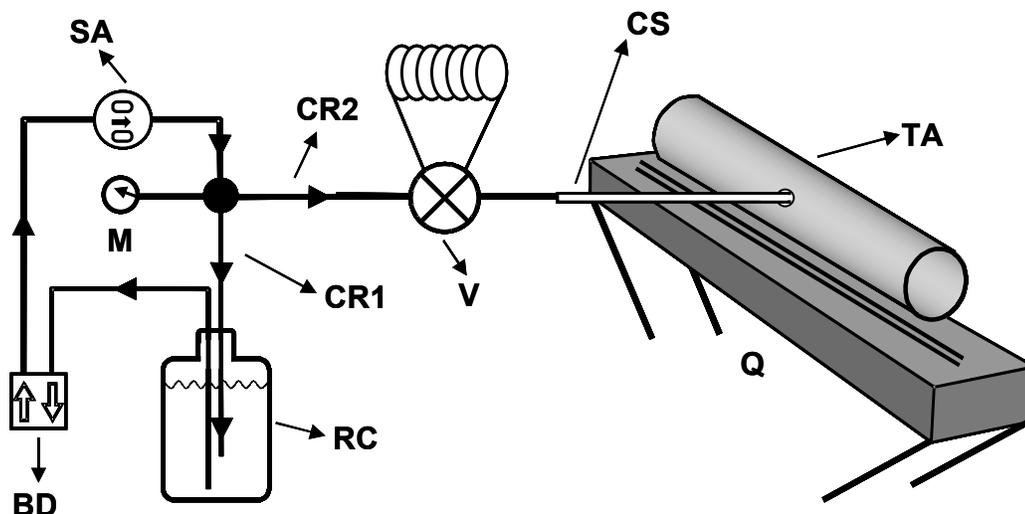


Figura 56: Configuração final do spray térmico, onde BD é a bomba de diafragma, M é um manômetro para monitorar a pressão do sistema, RC é o reservatório do carregador, SA é um dispositivo para diminuir os pulsos da bomba de diafragma, V é a válvula para amostragem e injeção da amostra, Q é o queimador, CS é o capilar do spray térmico, TA é o tubo atomizador e CR1 (0,5 mm de d.i. e 11 cm de comprimento) e CR2 (0,13 mm de d.i. e 150 cm de comprimento) são os capilares de PEEK para regulação dos fluxos.

### 3.8. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA

Foram estudados o volume da amostra, o fluxo do carregador, dimensões e tipo de tubo. Três tubos metálicos foram investigados: Ni 201 com 10 mm d.i., 12 mm d.e.; Ni 200 com 8 mm de d.i., 10 mm de d.e. e MA 956 com 8 mm de d.i. e 10 mm de d.e., todos com 10 cm de comprimento. Na introdução das soluções no interior do tubo atomizador, empregou-se um capilar cerâmico com 0,50 mm de d.i..

Na otimização do volume da amostra e fluxo carregador empregou-se um planejamento fatorial  $2^2$  mais ponto central. Os volumes de amostra empregados foram 100, 200 e 300  $\mu\text{L}$  (normalizados em -1, 0 e +1, respectivamente). O fluxo do carregador foi variado em 0,4 (-1), 0,7 (0) e 1,0 mL/min (+1). O planejamento fatorial foi repetido para cada tubo.

Na introdução dos padrões e suspensões no interior do tubo de Ni, empregou-se capilares cerâmicos, que normalmente são utilizados como isolantes de termopares. O d.i. do capilar cerâmico foi estudado para introdução da amostra no tubo atomizador. Uma alíquota de 300  $\mu\text{L}$  de uma solução de Cd a 8  $\mu\text{g/L}$  foi introduzida em um fluxo carregador de 0,4 mL/min, e por sua vez direcionada para

um tubo metálico atomizador. Sinais analíticos foram obtidos quando foram utilizados capilares cerâmicos com os seguintes d.i.: 0,50, 0,55, 0,60, 1,00 e 2,00 mm.

Nos testes preliminares com suspensões, foram observados alguns problemas de entupimento nas linhas de transmissão e capilar cerâmico. Estes problemas só foram eliminados quando as suspensões foram preparadas com uma pequena concentração de tensoativo. Neste caso o Triton-X100 foi estudado em concentrações que variaram de 0,5 a 1,5 % (v/v).

As amostras certificadas de folhas de pomar, tomate e citros foram moídas com o auxílio de um almofariz e pistilo, visando à obtenção de menores tamanhos de partículas. Algumas micrografias foram obtidas e o tamanho médio das partículas foi de 100  $\mu\text{m}$ . A Figura 57 mostra uma micrografia obtida da amostra de folhas de tomate.

Um outro parâmetro investigado no preparo das suspensões foi a concentração de  $\text{HNO}_3$ . A amostra certificada de folhas de tomate foi empregada para posterior determinação de Cd, Cu e Pb. Quatro concentrações de  $\text{HNO}_3$  foram escolhidas: 0,3, 1,0, 2,0 e 3,0 mol/L. A presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi também estudada em algumas suspensões.

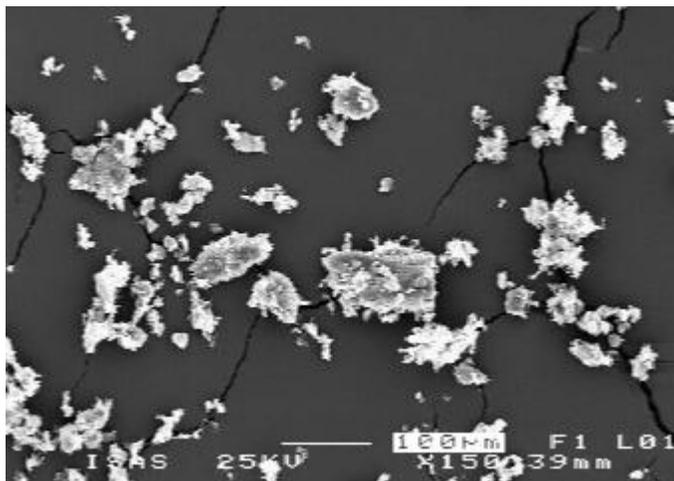


Figura 57: Micrografia da amostra de folhas de tomate. O aumento foi de 150 vezes.

### **3.9. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE, ATMOSFERA INTERNA E CONFIGURAÇÃO DO TUBO DE NÍQUEL**

Nos testes efetuados para determinação de Pb, tentou-se aumentar a sensibilidade da técnica proposta modificando-se a superfície interna do tubo de Ni ou misturando-se algum modificador químico aos padrões aquosos e suspensões.

Na primeira tentativa foram introduzidas duas alíquotas de 300 µL de uma solução 1 g/L de Zr, utilizando o tubo de Ni 201. Uma outra alternativa testada foi o preparo da suspensão empregando metanol, Zr e  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Em um outro momento, testou-se a introdução de um gás auxiliar diretamente dentro do tubo, para melhorar a atomização do Pb. Perfurou-se um tubo de Ni 201, resultando um furo na parte superior e quatro na parte inferior testando-se, inicialmente, a introdução de ar, com posterior introdução de  $\text{O}_2$ . Foram investigadas diversas vazões dos gases. Testou-se, também, a possibilidade de introduzir os gases pelo mesmo orifício de introdução da amostra.

Uma outra alternativa investigada foi a utilização de um tubo de Ni com furos na parte inferior e superior, permitindo maior entrada da chama no interior do atomizador com conseqüente aumento da temperatura interna. Neste último teste foi avaliado um tubo com 12 furos (6 na parte inferior e 6 na superior).

### **3.10. INVESTIGAÇÃO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb**

Nesta etapa do trabalho, foram efetuados alguns testes para verificar a influência de possíveis concomitantes na determinação de Cd, Cu e Pb. Neste caso, 4 macroconstituintes (Ca, Mg, Na e K) foram estudados com o intuito de verificar a existência de possíveis interferências devido à presença destes elementos. As proporções mínimas encontradas nas amostras foram iguais a 1:100 (Cd:Ca em rim de porco), 1:1 (Cu:Ca em fígado bovino) e 1: 100 (Pb:Mg em folhas de tomate). As proporções máximas foram iguais a 1:36000 (Cd:K em fígado bovino), 1:4000 (Cu:K em folhas de tomate) e 1:7000 (Pb:K em folhas de tomate). Neste caso, foi efetuado

um experimento fatorial onde as proporções para o Cd foram de 1:100, 1:841, 1:7071, 1:59460 e 1:500000; para o Cu estes valores foram de 1:10, 1:56, 1:316, 1:1778 e 1:10000; para o Pb, as proporções foram de 1:5, 1:40, 1:316, 1:2515 e 1:20000.

Os cálculos das concentrações de macroconstituintes e os procedimentos experimentais foram semelhantes àqueles discutidos no capítulo 2. As concentrações de Cd, Cu e Pb foram fixadas em 10, 100 e 100 µg/L, respectivamente.

Além dos estudos com macroconstituintes, foram efetuados alguns testes com microconstituintes: Cu, Fe, Mn e Zn para o Cd e Pb, e Fe, Mn e Zn para o Cu. Para estes testes as proporções máximas encontradas ao se levantarem as concentrações das amostras certificadas foram iguais a 1:990 para o Cd (Cd:Fe na amostra de fígado bovino), 1:63 para o Cu (Cu:Fe na amostra de folhas de tomate) e 1:110 para o Pb (Pb:Fe na amostra de folhas de tomate). Neste caso resolveu-se adotar apenas a proporção 1:4000 para o Cd (Cd:microconstituente), 1:100 para o Cu e 1:200 para o Pb. As concentrações dos analitos foram as mesmas adotadas para os testes com macroconstituintes. Os experimentos efetuados apresentaram uma boa margem de segurança, pois nos testes com microconstituintes, bem como com os testes com macroconstituintes, as proporções entre os analitos e concomitantes apresentaram-se acima dos valores encontrados nas amostras certificadas.

### **3.11. DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu, Pb E TESTES COMPARATIVOS COM ETAAS**

Nesta etapa foram efetuados alguns testes para comparar os resultados obtidos com o TS-FF-AAS e ETAAS. Nos testes com ETAAS, o Zr foi empregado como modificador químico permanente, onde os fornos de grafite foram tratados conforme o programa de aquecimento e procedimento descritos no capítulo 1 (Tabela 2).

Para otimizar as temperaturas de pirólise e atomização, foram empregadas as amostras de folhas de tomate (origem vegetal) e rim de porco (origem animal). As

temperaturas de pirólise e atomização mais favoráveis para a determinação de Cd, Cu e Pb foram 400 e 1900, 1100 e 2000 e 800 e 1900°C, respectivamente.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA

Na otimização do sistema variando o volume da amostra e o fluxo do carregador (emprego de uma solução de Cd 8 µg/L), foi observado um aumento da área do sinal analítico quando o volume foi aumentado e o fluxo diminuído. Entretanto, a altura do sinal analítico (absorbância) foi menos dependente das variações do volume da amostra e fluxo carregador. A Tabela 16 mostra os efeitos e as equações obtidas por meio dos experimentos fatoriais. Os efeitos mais significativos foram devido ao fluxo carregador, onde o sinal analítico (área) caiu de 318 a 394% quando o fluxo carregador foi aumentado de 0,4 para 1,0 mL/min.

A Figura 58 mostra os gráficos de contorno (baseados nas equações apresentadas na Tabela 16) para cada um dos tubos investigados, quando o volume da amostra e a velocidade do fluxo carregador foram estudados. Ao se observar a Figura 58 constata-se que a intensidade do sinal analítico está relacionada com o volume de amostra introduzido no sistema; entretanto, volumes maiores implicam em um tempo de permanência maior da amostra no sistema, com a conseqüente diminuição da frequência analítica. Assim volumes maiores que 300 µL não foram testados para se evitar um comprometimento deste parâmetro. Ao se observar o comportamento do fluxo carregador, verificou-se que fluxos maiores levaram a resultados menos satisfatórios, devido à diminuição da temperatura do tubo atomizador, com diminuição da eficiência na atomização. Este efeito já foi previamente observado por Gáspár e Berndt [12].

A partir da Figura 58 percebe-se que o tubo MA-956 apresentou sinais analíticos maiores que o Ni 200 e 201. Entretanto, o perfil dos sinais analíticos (simetria) não foi tão satisfatória quanto aquelas para o Ni 200 ou 201. Ao se comparar os dois tubos de Ni constata-se que o Ni 201 (Figura 58a) apresentou

maior sinal analítico (aproximadamente 25% maior), porém, esta observação não está, provavelmente, relacionada à composição dos dois tubos, e sim às suas dimensões. O tubo de Ni 201 apresenta um volume interno de aproximadamente 7,8 mL e um tempo de residência de 70 ms pode ser estimado (vazão do ar + vazão do acetileno igual a 7,5 L/min). Já o tubo de Ni 200 apresenta um volume interno de 5,0 mL resultando em um tempo de residência de 40 ms. O tubo de Ni 201 foi escolhido no prosseguimento dos experimentos. Todos os tubos testados possuíam 6 furos para entrada da chama de ar/acetileno.

Tabela 16: Efeitos obtidos para o volume da amostra (VA) e fluxo do carregador (F), e equações obtidas após execução dos experimentos fatoriais.

Tubo	Efeitos (%)				Equações	
	Altura		Área		Altura	Área
	VA	F	VA	F		
Ni 201	3	-1	143	-318	$y = 7,5 + 1,4VA - 0,4F$	$y = 532 + 72VA - 159 F$
Ni 200	2	-2	174	-337	$y = 6,0 + 1,1VA - 1,1F$	$y = 334 + 87VA - 169F$
MA-956	1	-2	354	-394	$y = 5,3 - 1,2F$	$y = 473 + 177VA - 197F$

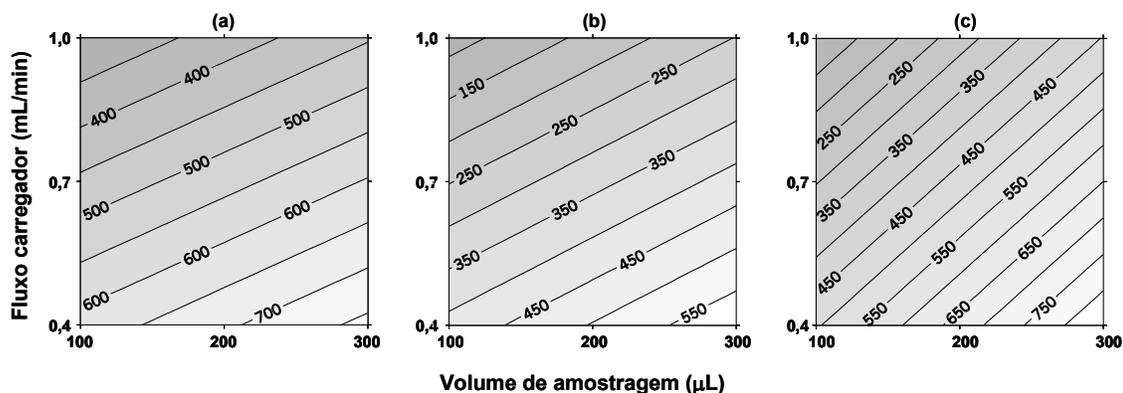


Figura 58: Gráficos de contorno obtidos nas otimizações do volume da amostra, e do fluxo do carregador, ao se empregar Ni 201 (a), Ni 200 (b) e MA 956 (c).

No estudo do d.i. do capilar cerâmico foi empregada uma solução padrão de Cd 8 µg/L e, um volume de 300 µL foi introduzido em um fluxo carregador de 0,4 mL/min. Diversos capilares cerâmicos com diferentes d.i. foram utilizados e os sinais analíticos gravados. A Figura 59 mostra os resultados obtidos.

Ao se observar a Figura 59 percebe-se que ao aumentar o d.i. do capilar cerâmico o sinal analítico cai. A área caiu 14% quando comparados os capilares com d.i. de 0,50 e 0,60 mm. Os capilares com 0,80 e 1,00 mm apresentaram uma queda

mais acentuada (60 e 70%, respectivamente). O capilar cerâmico com 0,50 mm de d.i. foi então escolhido para os demais testes. Capilares com d.i. menores não foram estudados devido aos tamanhos de partículas das amostras certificadas estudadas, as quais poderiam provocar entupimentos em capilares com diâmetros menores.

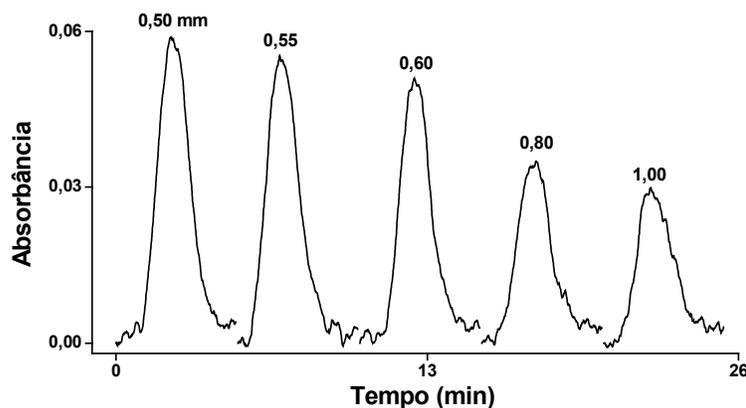


Figura 59: Estudo do d.i. do capilar cerâmico. Foram introduzidos 300  $\mu\text{L}$  de uma solução 8  $\mu\text{g/L}$  de Cd, e o fluxo carregador foi de 0,4 mL/min.

No início dos experimentos com suspensões foram observados alguns problemas de entupimentos das linhas de transmissão e do capilar do spray térmico. Este problema foi solucionado quando utilizado o Triton-X100 em combinação com o  $\text{HNO}_3$ . Diversas concentrações de Triton-X100 foram empregadas: 0,5 a 1,5 % (v/v). Concentrações maiores do tensoativo não ofereceram melhores resultados e a concentração de 0,5 % foi escolhida no preparo das suspensões.

Ao se investigar a concentração de  $\text{HNO}_3$  na preparação das suspensões, foi empregada a amostra de folhas de tomate. Diversas suspensões foram preparadas utilizando concentrações iguais a 0,3, 1,0, 2,0 e 3,0 mol/L. A Figura 60 mostra os resultados obtidos para o Cd quando um volume de 300  $\mu\text{L}$  de amostra foi introduzido em um fluxo carregador de 0,4 mL/min.

A partir da Figura 60 percebe-se que não existe influência da concentração de  $\text{HNO}_3$ , no intervalo estudado, no preparo das suspensões. Este comportamento foi confirmado com um teste  $t$ , e nenhuma diferença significativa foi observada ao nível de 95%. Ao se empregar concentrações maiores de  $\text{HNO}_3$ , observou-se um aumento do RSD nas determinações de Cd: para o  $\text{HNO}_3$  0,3 e 1,0 mol/L o RSD foi de 2% ( $n = 3$ ), para 2,0 mol/L esse valor foi de 3% ( $n = 3$ ) e para 3,0 mol/L foi igual a 8%. Este

aumento pode ser devido a interferências espectrais causadas por uma correção de fundo deficiente das bandas de NO (205, 215 e 226 nm) ou bandas de NO<sub>2</sub> (< 250, > 270 nm) formadas devido às altas concentrações de HNO<sub>3</sub> [24]. Assim, o HNO<sub>3</sub> 0,3 mol/L foi empregado nos experimentos que se seguiram.

O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi testado em combinação com o HNO<sub>3</sub>, porém, nenhum efeito foi observado. Este fato provavelmente deve-se à rápida decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no interior do tubo de Ni.

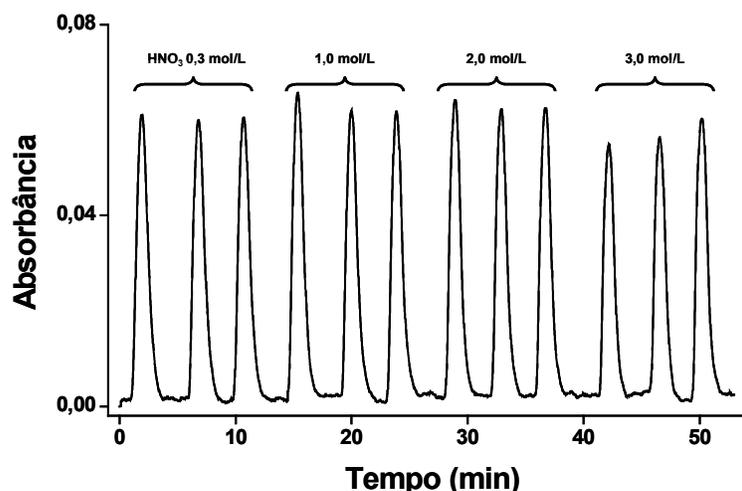


Figura 60: Estudo do efeito da concentração de HNO<sub>3</sub> no preparo das suspensões.

#### 4.2. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE, ATMOSFERA INTERNA E CONFIGURAÇÃO DO TUBO DE NÍQUEL

O procedimento para tratamento da superfície interna do tubo de Ni utilizando o Zr não resultou em nenhum efeito positivo. Desta forma, outras alternativas foram testadas, sendo discutidas e comentadas a seguir.

Foram investigadas diversas possibilidades para a modificação da atmosfera interna do tubo de Ni 201. A primeira alternativa foi a utilização de um tubo com um maior número de furos. Neste sentido, empregou-se um tubo com 6 furos na parte inferior e 6 na superior. Este procedimento possibilitou uma maior entrada da chama no interior do tubo e conseqüentemente um aumento da sua temperatura interna. Entretanto, este procedimento não refletiu em um aumento da sensibilidade como mostra a Figura 61a (a concentração de Pb foi fixada em 100 µg/L). Este fenômeno

pode ser explicado devido a uma diminuição do tempo de residência dos átomos do analito no interior do tubo atomizador.

Uma outra alternativa, com o intuito de deixar a atmosfera no interior do tubo mais oxidante, foi a introdução de ar no interior do tubo de Ni; porém, nenhuma melhora foi observada. Tentou-se introduzir O<sub>2</sub> em diferentes vazões, porém, novamente, nenhum efeito positivo foi observado (houve uma diminuição do sinal), como mostra a Figura 61b (a concentração de Pb foi fixada em 80 µg/L).

Em uma terceira tentativa empregou-se um tubo de Ni sem qualquer furo na parte inferior ou superior. Neste caso não se observou nenhum efeito positivo. Entretanto, ao se adicionar metanol (concentração final igual a 1% v/v) a uma solução 100 µg/L de Pb, foi observado um aumento de 10 %, como mostra a Figura 61c.

Em um outro teste tentou-se preparar uma solução padrão de Pb em Zr, fosfato e metanol. Novamente o metanol apresentou um leve aumento do sinal analítico, como mostra a Figura 61d.

Foi tentado, também, empregar um sistema monosseção [25] para a introdução das amostras na determinação de Pb. Neste caso, observou-se que a bolha de ar deforma o sinal analítico sem qualquer melhora na sensibilidade. Este fenômeno pode ser observado na Figura 61e. Novamente foi testada a introdução de O<sub>2</sub>, porém, desta vez, pelo mesmo orifício do capilar do spray térmico. Nenhuma melhora foi detectada, como mostra a Figura 61f. Nos testes mostrados nas Figuras 61e e 61f a concentração de Pb foi fixada em 80 µg/L.

Após a execução destes diversos testes na tentativa de modificar a superfície e/ou a atmosfera interna do tubo de Ni e constatar que não houve qualquer efeito benéfico, estes experimentos foram abandonados e o tubo de Ni com 6 furos na parte inferior foi empregado nos experimentos que se seguiram. Uma provável explicação para o insucesso dos experimentos com modificação pode ser o fato de que o Ni já atue como um modificador químico com diversos empregos na literatura. Outra informação relevante é que o Ni já foi empregado como modificador químico sólido em dois trabalhos propostos por Dürnberger *et al.* [26,27]. Nestes trabalhos os autores determinaram Se em amostras certificadas de carvão e cinzas de incineradores urbanos. As amostras sólidas foram misturadas com Ni em pó e

colocadas em um tubo de grafite de um espectrômetro de absorção atômica com corretor Zeeman. A melhor razão entre as massas de Ni: amostra compreendeu a faixa de 2:1 a 8:1.

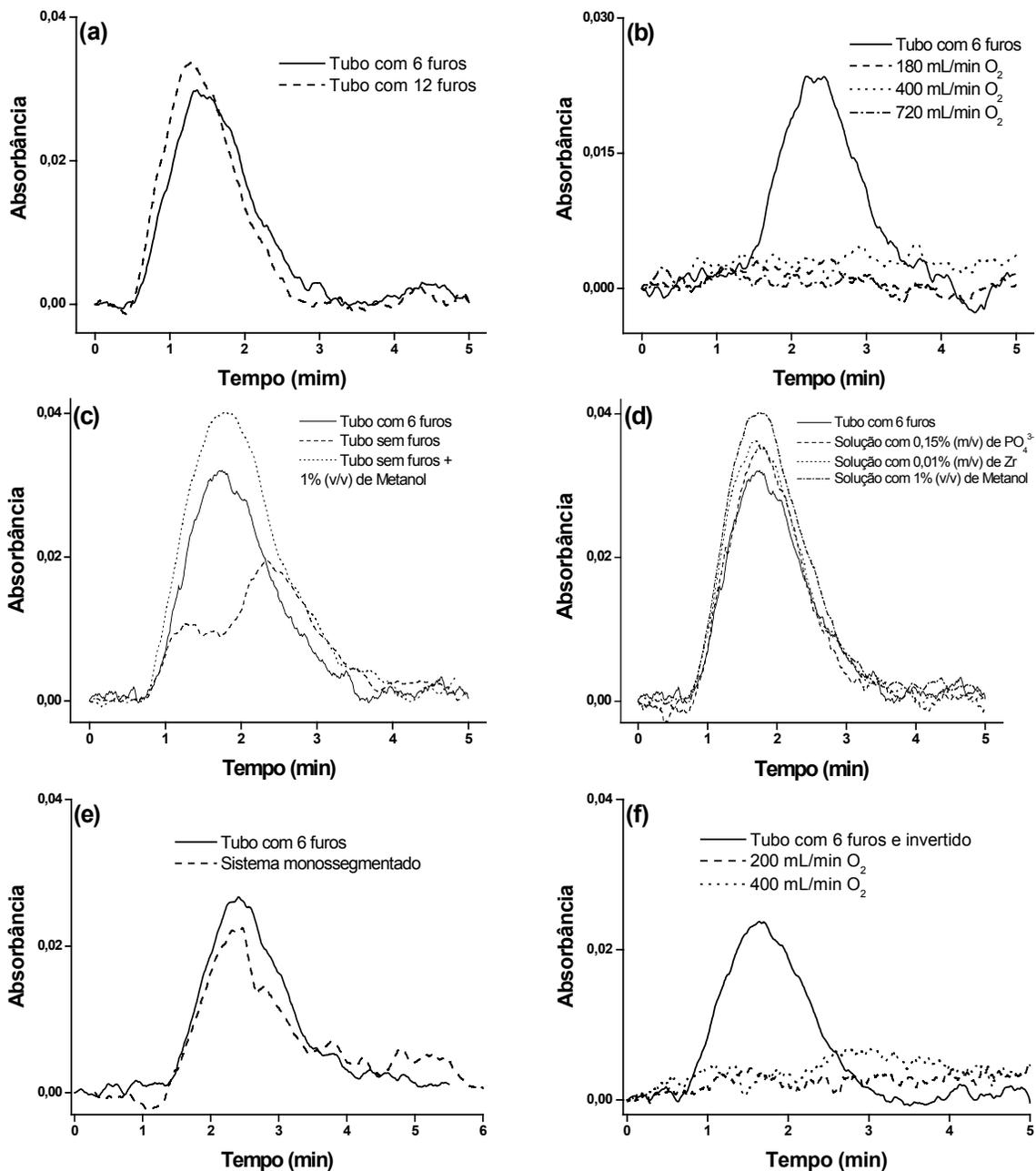


Figura 61: Sinais analíticos para a determinação de Pb empregando tubos de Ni com 6 e 12 furos (a), introdução de  $\text{O}_2$  (b), tubo sem furos e solução preparada em metanol (c), adição de  $\text{PO}_4^{3-}$  e Zr (d), emprego de sistema monossegmentado (e) e introdução frontal de  $\text{O}_2$  (f).

Nos testes efetuados neste quarto capítulo a possibilidade de tratamento da superfície interna do tubo de Ni não apresentou nenhum resultado satisfatório. Uma possível alternativa seria trabalhar com um tubo que apresentasse o Zr ou outro modificador em sua composição. Uma outra explicação para o insucesso dos testes pode ser a interação deficiente entre o Ni e o Zr. Outras alternativas podem ser testadas em um trabalho mais específico, tais como, a introdução de uma mistura entre Ar e H<sub>2</sub>.

#### **4.3. ESTUDO DO EFEITO DE POSSÍVEIS CONCOMITANTES NA DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb**

Os estudos para verificar o comportamento de possíveis concomitantes na determinação de Cd, Cu e Pb foram realizados com quatro macroconstituintes: Ca, Mg, Na e K. Nestes estudos foi empregado um planejamento fatorial com 30 experimentos (Tabela 11 - capítulo 2), sendo que a absorvância foi observada em todos os experimentos. Após a execução dos experimentos e cálculo dos coeficientes e seus respectivos erros (conforme item 2.4. do primeiro capítulo), verificou-se que, para a faixa de concentração estudada, os concomitantes apresentaram efeitos negativos na determinação de Cd, Cu e Pb somente quando a proporção analito:concomitante foi máxima (1:500000). Nenhum efeito sinérgico foi observado entre os possíveis concomitantes. A Figura 62 mostra a variação do sinal analítico (absorvância) na determinação de Cd na presença de diferentes concentrações de concomitantes. Nestes testes empregou-se uma solução padrão 10 µg/L de Cd. Esta solução, na ausência de concomitantes, apresentou uma absorvância média de 0,07. Observando-se a Figura 62a percebe-se que mesmo quando as concentrações dos concomitantes foram máximas, a absorvância integrada apresentou uma pequena queda de 14 e 21% para o Mg (círculos) e Na (triângulos cheios), respectivamente. As linhas tracejadas representam a absorvância média  $(0,07) \pm 10\%$ . No caso do Cu (Figura 62b), o Ca (quadrados) não implicou em nenhum efeito negativo ou positivo dentre de uma faixa de  $\pm 10\%$  (ver linhas tracejadas na Figura 62b). Já o Mg (círculos), Na (triângulo cheio) e K

(triângulo vazio e enveredado) suprimiram o sinal do Cu em 18, 26 e 39%, respectivamente, mas somente quando presentes nas concentrações máximas. Para o Pb (Figura 62c), o principal concomitante foi o Ca (quadrados), com uma queda do sinal analítico de 50%, quando foi investigada a concentração máxima. Como as concentrações máximas dos concomitantes testados são muito superiores aos valores encontrados nas amostras certificadas, pode-se concluir que os testes com macroconstituintes foram efetuados com uma larga margem de segurança e os problemas com concomitantes só foram observados em uma faixa muito afastada das condições reais encontradas nas amostras certificadas.

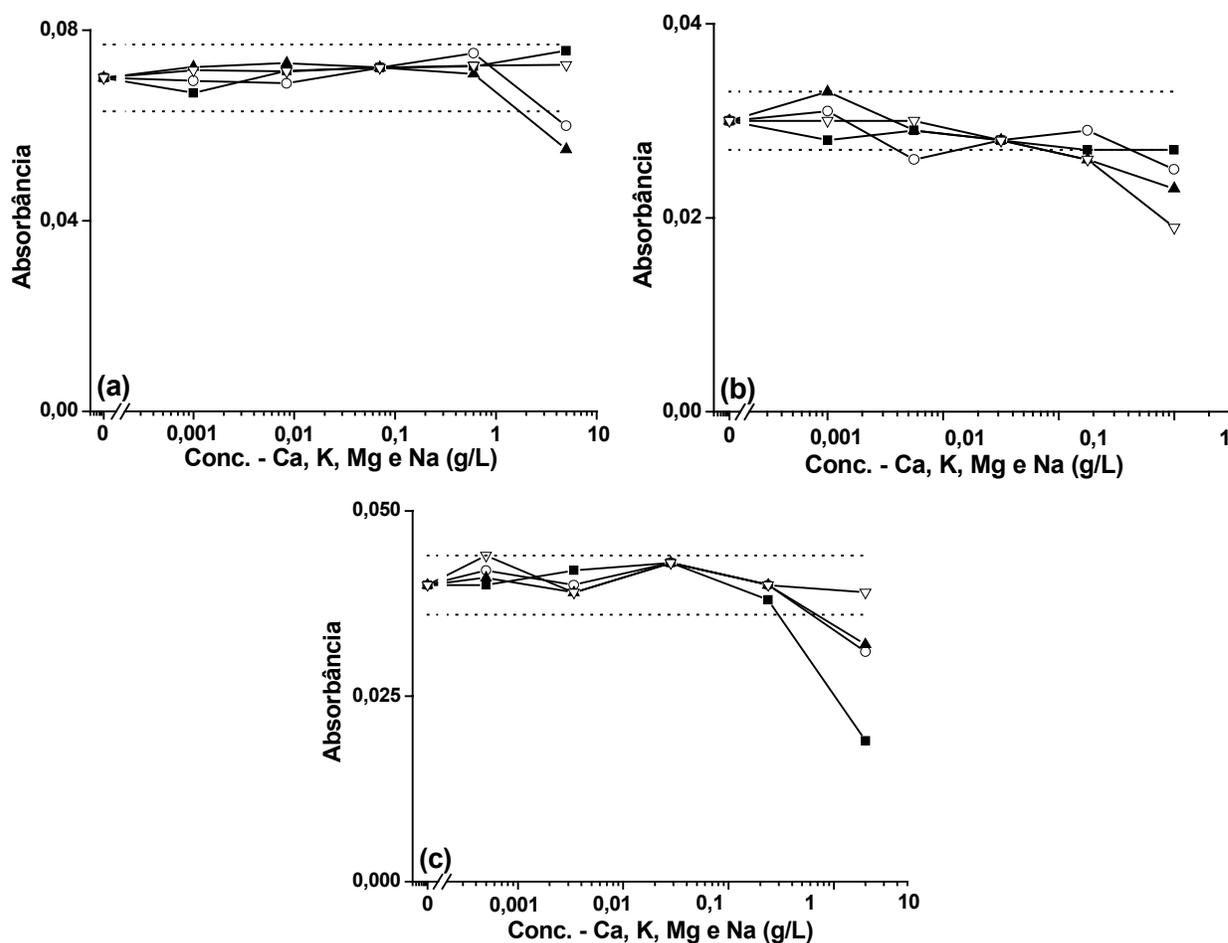


Figura 62: Influência de Ca (quadrados), Mg (círculos), Na (triângulo cheio) e K (triângulo vazio e invertido) na determinação de Cd (a), Cu (b) e Pb (c). As linhas tracejadas representam a absorbância média  $\pm 10\%$ .

Desta forma, os efeitos encontrados, provavelmente, não ocorrerão na análise de amostras reais.

Os testes com microconstituintes não apresentaram nenhuma variação positiva ou negativa quando o Cd e Pb foram determinados juntamente com Cu, Fe Mn e Zn e o Cu foi determinado na presença de Fe, Mn e Zn. As proporções entre os analitos e os microconstituintes são aquelas já apresentadas no item 3.10. deste capítulo. A Figura 63 mostra os sinais analíticos de diversas soluções de Pb (0,1 mg/L) na ausência e na presença dos microconstituintes. Por meio desta figura, é possível verificar que nenhuma influência positiva ou negativa foi observada. Esta conclusão foi confirmada empregando-se um teste *t*, sendo que nenhuma diferença significativa foi observada ao nível de confiança de 95%.

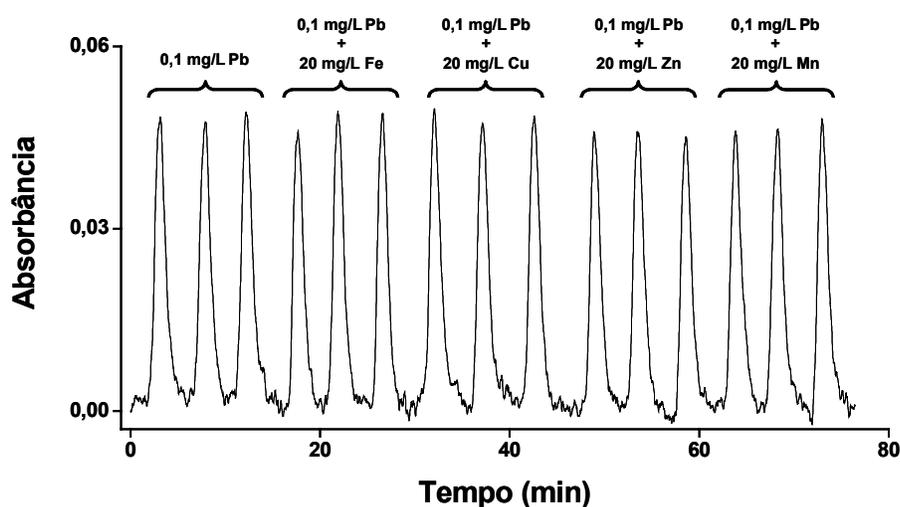


Figura 63: Influência de Fe, Cu, Zn e Mn na determinação de Pb.

#### 4.4. DETERMINAÇÃO DE Cd, Cu e Pb

Nos testes iniciais para investigação da concentração mais adequada de HNO<sub>3</sub> para o preparo das suspensões foram obtidos sinais analíticos bem reprodutíveis.

Na calibração foi testado, inicialmente, o método de adição de padrão. Diversas suspensões dos materiais certificados foram preparadas, pesando-se 40 mg de amostra, seguindo-se a adição de um volume determinado dos padrões de

Cd, Cu e Pb. O volume final foi ajustado a 10 mL, utilizando uma solução de  $\text{HNO}_3$  0,3 mol/L e Triton X-100 0,5% (v/v). No caso específico do Cd, as concentrações finais deste metal foram 2, 4, 8 e 12  $\mu\text{g/L}$ . As recuperações obtidas (determinação do Cd nas amostras certificadas) foram de 98 a 112% ( $n = 3$ ), quando a área do sinal analítico foi utilizada na calibração. Nos experimentos que se seguiram, a simples calibração contra padrões aquosos foi testada, e foram alcançadas recuperações similares àquelas comentadas anteriormente. A Figura 64 mostra os sinais analíticos para a determinação de Cd. Na parte superior da figura são mostrados os sinais para a curva de calibração (2,0 – 12,0  $\mu\text{g/L}$ ) e, na parte inferior, são mostrados os sinais analíticos para as suspensões de fígado bovino (1% m/v), rim de porco (0,4% m/v), folhas de tomate (0,3% m/v) e espinafre (0,7% m/v).

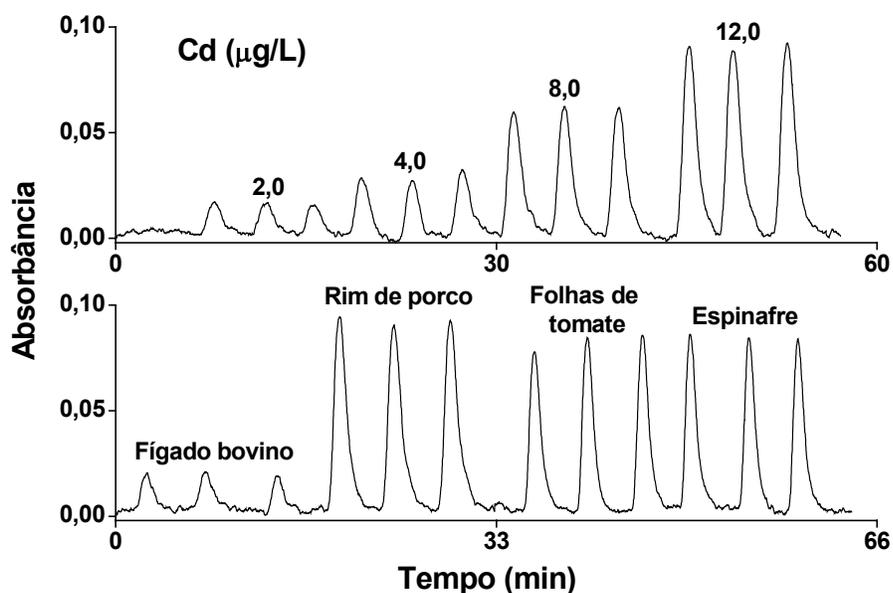


Figura 64: Sinais analíticos obtidos na determinação de Cd. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente.

A partir da Figura 64 é possível obter uma boa idéia da repetibilidade dos sinais analíticos, e foram determinadas concentrações a partir de 2  $\mu\text{g/L}$ . A Figura 65 mostra os sinais analíticos relativos à determinação de Cu em seis amostras certificadas. A curva de calibração abrangeu a faixa de 50 a 250  $\mu\text{g/L}$ .

Na determinação de Pb, a curva de calibração adotada foi de 40 a 120  $\mu\text{g/L}$ , e três amostras certificadas foram analisadas: folhas de citros, tomate e pomar. A Figura 66 mostra os sinais analíticos.

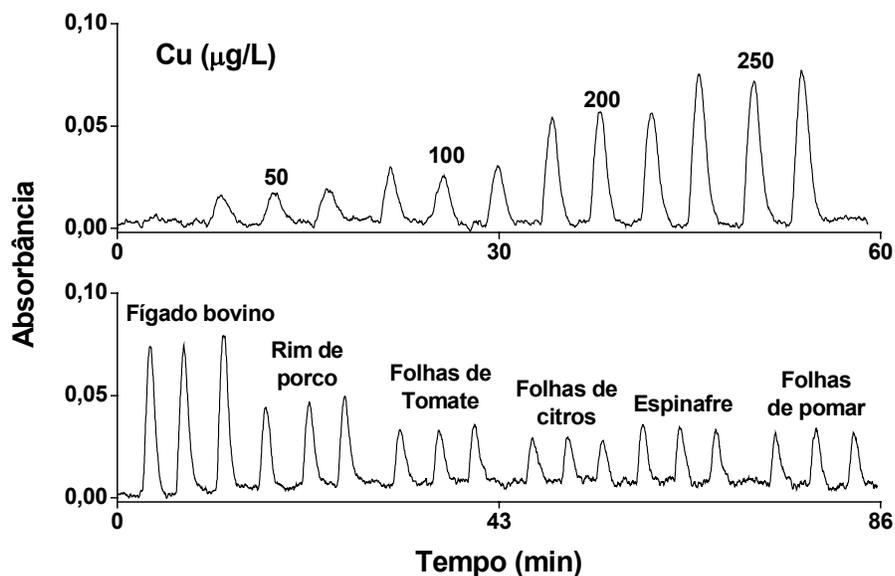


Figura 65: Sinais analíticos obtidos na determinação de Cu. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente.

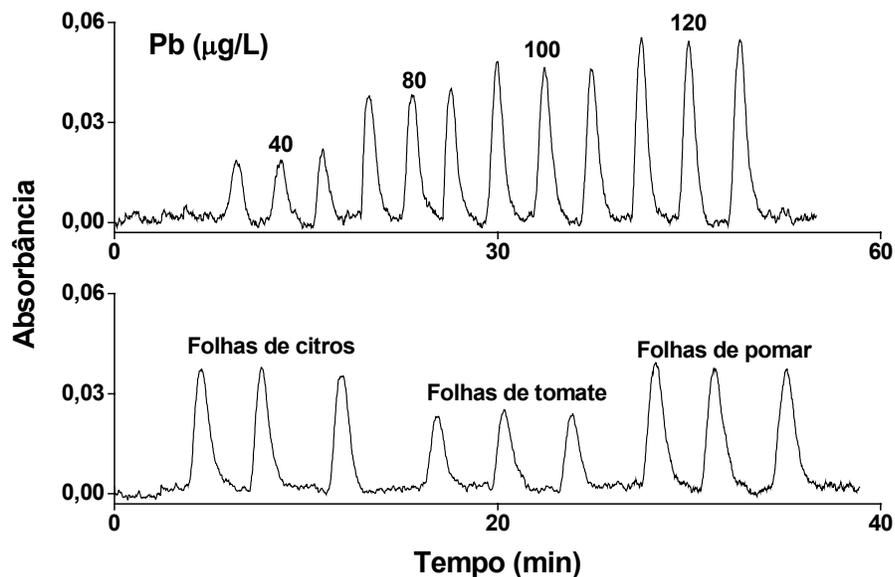


Figura 66: Sinais analíticos para o Pb. Na parte superior e inferior temos os sinais para a curva de calibração e para as suspensões, respectivamente.

Com as Figuras 64-66 estimou-se o tempo consumido para cada determinação, sendo de 4,8 min, com uma frequência analítica de 12 determinações por hora.

#### 4.5. RESULTADOS E CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

Todas as determinações realizadas por TS-FF-AAS foram registradas em altura e área de sinal. Quando as alturas dos sinais foram avaliadas, as concentrações obtidas foram aproximadamente 5 a 10% maiores que os valores certificados. Entretanto, quando as áreas foram avaliadas foi encontrada uma boa concordância entre os valores obtidos e certificados. Portanto, todas as concentrações apresentadas neste capítulo foram calculadas a partir da área do sinal. As Tabelas 17, 18 e 19 mostram as concentrações encontradas nas amostras certificadas para Cd, Cu e Pb, respectivamente. O volume de amostragem foi sempre igual a 300  $\mu$ L, e as concentrações das suspensões variaram de 0,1 a 1,0 % (m/v), devido às diferentes concentrações dos analitos nas amostras certificadas. A reprodutibilidade foi estimada ao se calcular o RSD a partir de 10 suspensões preparadas e analisadas em diferentes dias, e os valores encontrados foram, geralmente, inferiores a 10%. Considerando a complexidade das matrizes biológicas, o uso de suspensões e o fato de que as determinações foram efetuadas em diferentes dias, esses desvios podem ser considerados aceitáveis. Os desvios padrões relativos encontrados quando as mesmas suspensões (repetibilidade) foram analisadas englobaram a faixa de 2 a 5% ( $n = 10$ ).

A Tabela 20 mostra os resultados encontrados para Cd, Pb e Cu quando três amostras não certificadas de extrato de tomate (ET) foram analisadas. Estes metais foram também determinados empregando-se ETAAS, tendo o Zr como modificador químico permanente. Adicionalmente, as amostras certificadas também foram analisadas por ETAAS e os resultados encontram-se nas Tabelas 17 – 20. Um teste  $t$  não pareado entre os valores encontrados em TS-FF-AAS e os valores certificados foi aplicado para cada amostra e nenhuma diferença significativa foi encontrada ao nível de confiança de 95%. O mesmo teste estatístico foi aplicado para comparar os

valores certificados e obtidos por ETAAS, bem como os valores obtidos por TS-FF-AAS e ETAAS. Os valores encontrados para as amostras não certificadas foram também comparados empregando-se o teste *t* e nenhuma diferença significativa ao nível de 95% foi encontrada.

Tabela 17: Resultados encontrados para o Cd.

Amostra certificada	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )			Concentração das suspensões (% m/v)	
	Valor certificado	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)	TS-FF-AAS (300 $\mu\text{L}$ )	ETAAS (20 $\mu\text{L}$ )
Espinafre	1,5 <sup>a</sup>	1,5 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,2	0,7	0,5
Folhas de tomate	3 <sup>a</sup>	2,6 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,2	0,3	0,3
Fígado bovino	0,27 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,03	0,29 $\pm$ 0,02	1,0	0,7
Rim de porco	2,71 $\pm$ 0,15	2,8 $\pm$ 0,2	3,0 $\pm$ 0,2	0,4	0,4

<sup>a</sup> Valores de referência.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as recomendações da IUPAC [28]. Para o Cd os limites de detecção e quantificação foram iguais a 0,5 e 1,7  $\mu\text{g/L}$  (curva de calibração de 2 a 12  $\mu\text{g/L}$ ), para o Cu foram iguais a 4 e 14  $\mu\text{g/L}$  (curva de calibração de 50 a 250  $\mu\text{g/L}$ ) e para o Pb iguais a 4 e 12  $\mu\text{g/L}$  (curva de calibração de 40 a 120  $\mu\text{g/L}$ ), respectivamente. Em todos os casos foram efetuadas mais de 50 determinações do branco.

Tabela 18: Resultados encontrados para o Cu

Amostra certificada	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )			Concentração das suspensões (% m/v)	
	Valor certificado	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)	TS-FF-AAS (300 $\mu\text{L}$ )	ETAAS (20 $\mu\text{L}$ )
Espinafre	12 $\pm$ 2	10,5 $\pm$ 1,5	10,2 $\pm$ 1,0	0,8	0,5
Folhas de pomar	12 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	0,8	0,7
Folhas de citros	16,5 $\pm$ 1,0	15,1 $\pm$ 2,0	15,5 $\pm$ 1,0	0,4	0,6
Folhas de tomate	11 $\pm$ 1	10 $\pm$ 2	10 $\pm$ 1	0,9	0,4
Fígado bovino	193 $\pm$ 10	193 $\pm$ 18	193 $\pm$ 20	0,1	0,05
Rim de porco	31,9 $\pm$ 0,4	33,1 $\pm$ 3,2	30,2 $\pm$ 1,0	0,5	0,4

Tabela 19: Resultados encontrados para o Pb

Amostra certificada	Pb ( $\mu\text{g/g}$ )			Concentração das suspensões (% m/v)	
	Valor certificado	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)	TS-FF-AAS (300 $\mu\text{L}$ )	ETAAS (20 $\mu\text{L}$ )
Folhas de pomar	45 $\pm$ 3	43 $\pm$ 5	47 $\pm$ 2	0,2	0,2
Folhas de citros	13,3 $\pm$ 2,4	13,8 $\pm$ 1,9	14,6 $\pm$ 1,0	0,6	0,6
Folhas de tomate	6,3 $\pm$ 0,3	6,2 $\pm$ 0,7	5,5 $\pm$ 0,9	0,8	0,4

Tabela 20: Resultados encontrados para o Cd, Cu e Pb nas amostras não certificadas de extrato de tomate (ET).

Amostra	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )		Cu ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	
	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)	TS-FF-AAS (n = 10)	ETAAS (n = 3)
ET1	0,18 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,02	18,1 $\pm$ 1,3	20,2 $\pm$ 1,0	3,7 $\pm$ 0,6	3,3 $\pm$ 0,6
ET2	0,36 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,03	18,4 $\pm$ 1,8	18,7 $\pm$ 3,2	4,7 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,5
ET3	0,20 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,02	19,8 $\pm$ 1,7	18,6 $\pm$ 1,0	4,9 $\pm$ 0,6	4,4 $\pm$ 0,4

#### 4.6. TUBO DE Ni

O tubo de Ni empregado nos testes com otimizações, concomitantes, e determinações foi utilizado por mais de 5000 determinações ou cerca de 500 horas de trabalho. Após o final de todos os experimentos, o tubo foi cortado em quatro segmentos denominados de (1) frontal: caracterizado pelo orifício de introdução do capilar cerâmico; (2) posterior: lado oposto à superfície frontal; (3) inferior: superfície contendo os orifícios para entrada parcial da chama e (4) superior: lado oposto à superfície inferior. A Figura 67 mostra um esquema dos cortes.

Com o auxílio do microscópio de varredura eletrônica do ISAS foram obtidas diversas micrografias da superfície interna e externa do tubo. A Figura 68a mostra uma micrografia que representa quase que a totalidade da superfície interna do tubo. A parte externa apresentou uma outra morfologia, como mostra a Figura 68b. Já a parte interna e alvo do spray térmico apresentou uma morfologia totalmente distinta das demais partes, como é possível visualizar na Figura 68c (todas com aumento de 400x). Para comparar as morfologias das superfícies dos tubos de Ni, a Figura 69 mostra uma micrografia de um tubo de Ni 201 novo (esta micrografia foi obtida

utilizando-se o microscópio de varredura eletrônico do Instituto de Química da Unicamp).

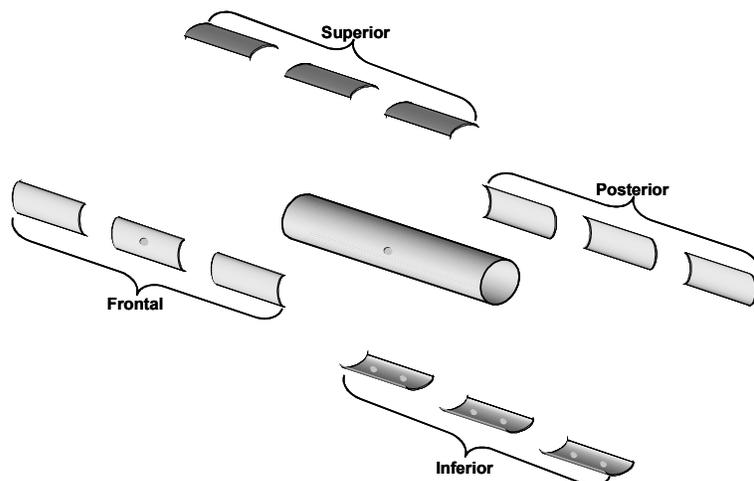


Figura 67: Tubo de Ni cortado em quatro segmentos: frontal, posterior, inferior e superior.

Ao se comparar as micrografias das Figuras 68 e 69 percebe-se uma grande diferença entre o tubo usado e o tubo novo. No tubo utilizado por cerca de 500 horas nota-se o surgimento de pequenos orifícios (Figura 68a). Já o tubo novo (Figura 69) apresenta o mesmo padrão morfológico tanto na superfície interna como externa, sendo possível observar apenas algumas estrias, provavelmente, oriundas do processo de extrusão/fabricação do tubo.

Juntamente com as micrografias foram feitas algumas determinações semiquantitativas da composição dos metais presentes na superfície do tubo utilizando um detector de Raios-X acoplado ao microscópio de varredura eletrônica. A Figura 70 mostra os resultados obtidos. A superfície interna do tubo de Ni, excetuando-se a superfície de impacto do spray térmico, apresentou uma concentração de Ni variando de 59 a 84%, e foram detectados também Ca, P, Si e Mg.

A superfície de impacto do spray térmico apresentou apenas 12% de Ni e uma alta concentração de Ca (39%), P (16%), Si (2%) e Mg (31%). A explicação para o aumento das concentrações dos metais nesta parte do tubo pode ser devido às amostras empregadas e aos testes efetuados com macroconstituintes (Ca e Mg). A superfície externa apresentou 95% de Ni, não foram detectados P e Si, e o Fe, Ca e Mg apresentaram uma concentração de aproximadamente 0,3% para cada metal.

O segmento do tubo de Ni contendo a superfície de impacto do spray térmico foi visualizado, também, com uma lupa e foi utilizado um aumento de 32 vezes. A Figura 71 mostra uma das imagens obtidas com uma máquina fotográfica digital, e com o auxílio de um *software* específico foi possível medir uma superfície de impacto com aproximadamente 1,6 mm de raio.

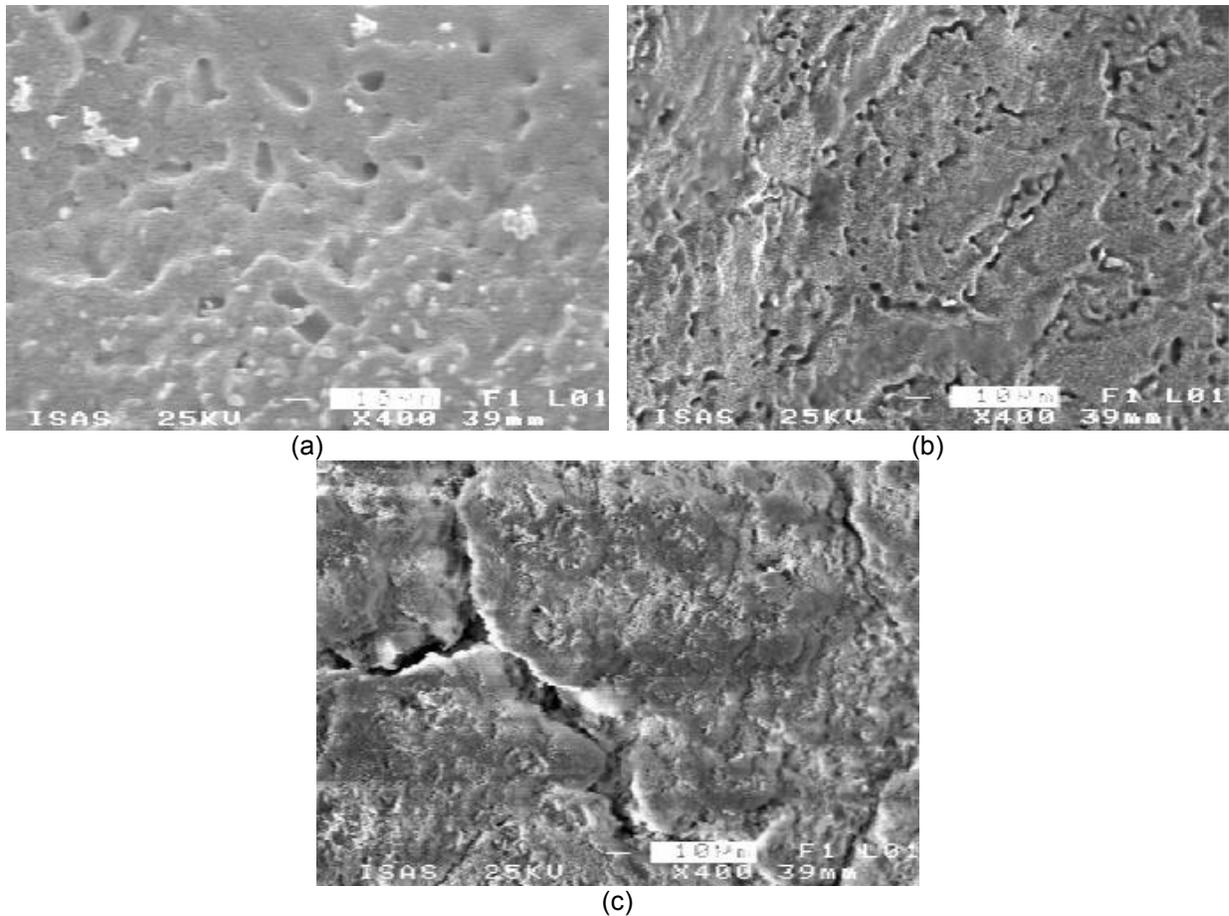


Figura 68: Micrografias (aumento de 400x) da superfície interna (a), e externa (b) do tubo de Ni utilizado nos trabalhos e da superfície de impacto (c) do spray térmico.



Figura 69: Micrografia da superfície interna de um tubo de Ni 201 novo (aumento de 500x). Na legenda no canto inferior esquerdo temos: a escala utilizada, onde o traço negro corresponde a 100  $\mu\text{m}$ , em seguida temos a aceleração de voltagem (20 KV), a data de obtenção da micrografia (12 de Junho) e a seqüência da micrografia (segunda a ser obtida).

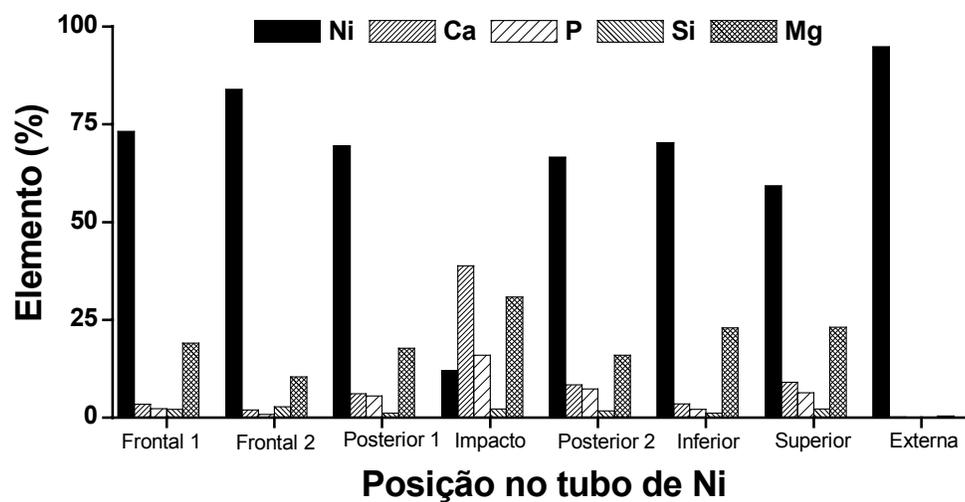


Figura 70: Composição da superfície do tubo de Ni em diferentes posições.

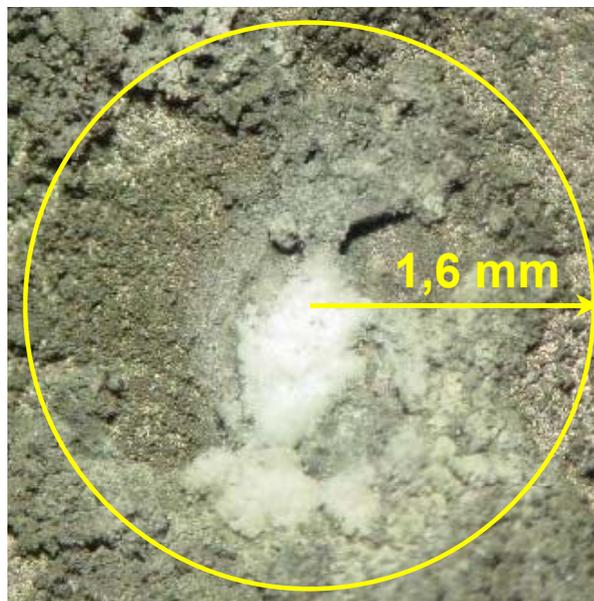


Figura 71: Imagem da superfície de impacto do spray térmico com 32 vezes de aumento e obtida com sistema analisador de imagens, composto de lupa e máquina fotográfica digital.

#### 4.6.1. Estudos com micro sonda de fluorescência de raios-X

Com a finalidade de realizar um estudo mais aprofundado das características da superfície do tubo de Ni foi feita uma varredura da superfície de impacto utilizando a micro sonda de fluorescência de raios-X disponível no LNLS. Toda a teoria e aplicações da radiação síncrotron se encontram no segundo capítulo.

Juntamente com a superfície de impacto foram efetuadas varreduras de mais 5 partes provenientes da região central do tubo de Ni usado: inferior, frontal, posterior, superior e parte externa. Um tubo novo (Ni 201) também foi estudado. Nas varreduras foi investigado um quadrado com 3 mm de lado e 100 pontos foram mapeados. O tempo de aquisição foi de 20 s por ponto e a penetração do feixe de luz (20  $\mu\text{m}$  de diâmetro) foi estimada em 30  $\mu\text{m}$ .

Com o emprego da micro sonda de fluorescência de raios-X foi possível, também, efetuar uma análise semiquantitativa utilizando um tubo de Ni 201 novo como padrão. A composição deste tubo já foi mostrada no Quadro 6. Nesta análise empregou-se a técnica de parâmetros fundamentais [29,30] e a Figura 72 mostra os resultados obtidos. A posição frontal e inferior (Figuras 72a e 72b) apresentaram um comportamento muito semelhante, pois a concentração de Ni variou de 10 a 98%. A

média da concentração foi de 94 e 92 para a posição frontal e inferior, respectivamente. As posições superior e externa (Figuras 72c e 72d) apresentaram uma média de concentração de 96 e 97%, respectivamente. Já na posição de impacto (Figura 72e) a concentração de Ni variou de 15 a 98% e a média foi de 89%. A superfície do tubo novo (Figura 72f) apresentou em toda a sua extensão 98% de Ni.

A partir da Figura 72 percebe-se certa heterogeneidade do Ni. Na varredura da posição frontal mapeou-se uma pequena parte do orifício principal de entrada do spray térmico, este fato explica a forte queda do sinal da concentração do Ni apresentada na Figura 72a. A superfície externa (Figura 72d) apresentou certa homogeneidade. Este fato evidencia que os processos de atomização estão restritos a parte interna do tubo. Outros metais foram encontrados durante as varreduras, tais como, Ca, Cr, Fe, Mn, Ti e V. Estes metais foram, provavelmente, provenientes de impurezas no tubo de Ni ou resíduos deixados pelas amostras ou testes com concomitantes.

A superfície de impacto do spray térmico apresentou um comportamento totalmente diferente devido ao alto sinal de fluorescência obtido para o Ca. Neste caso o sinal para o Ni caiu nos mesmos locais, onde o sinal do Ca foi maior. A Figura 73 mostra a superfície de resposta obtida para o Ca (Figura 73a) e Ni (Figura 73b). Na superfície de impacto houve, muito provavelmente, uma troca entre o Ca e o Ni. Entretanto, não é possível saber como se deu esta troca e porque somente com o Ca. Mais investigações são necessárias com o intuito de elucidar tal mecanismo. Ao se sobrepor a imagem do local mapeado (Figura 71) com os gráficos de contorno das superfícies obtidas na Figura 73, percebe-se que o ponto branco presente na imagem da Figura 71 coincide com o local onde o sinal do Ca e do Ni foram mais e menos intensos, respectivamente. A Figura 74 mostra a sobreposição.

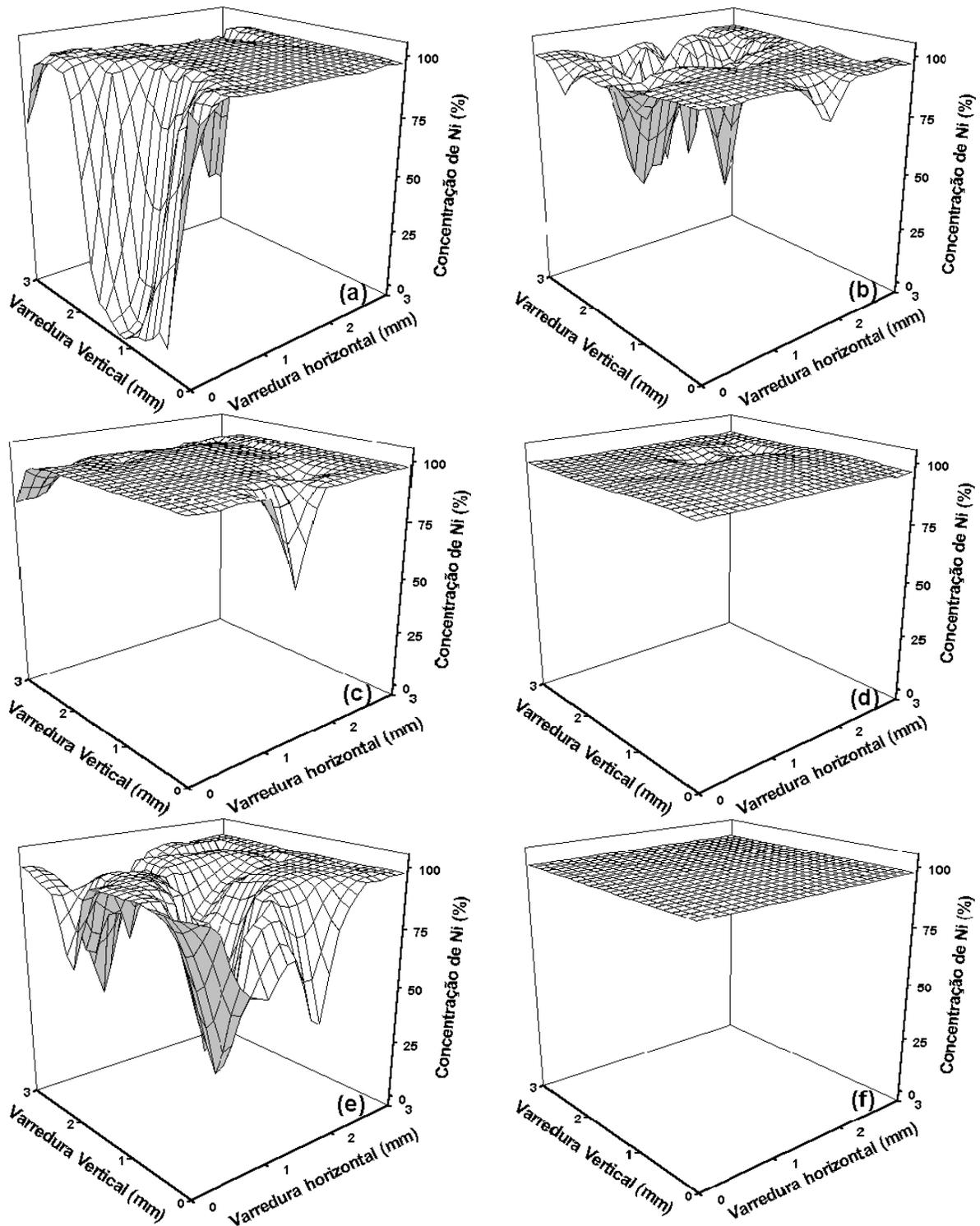


Figura 72: Ni(%) nas superfícies frontal (a), inferior (b), superior (c), externa (d), impacto (e) e nova (f).

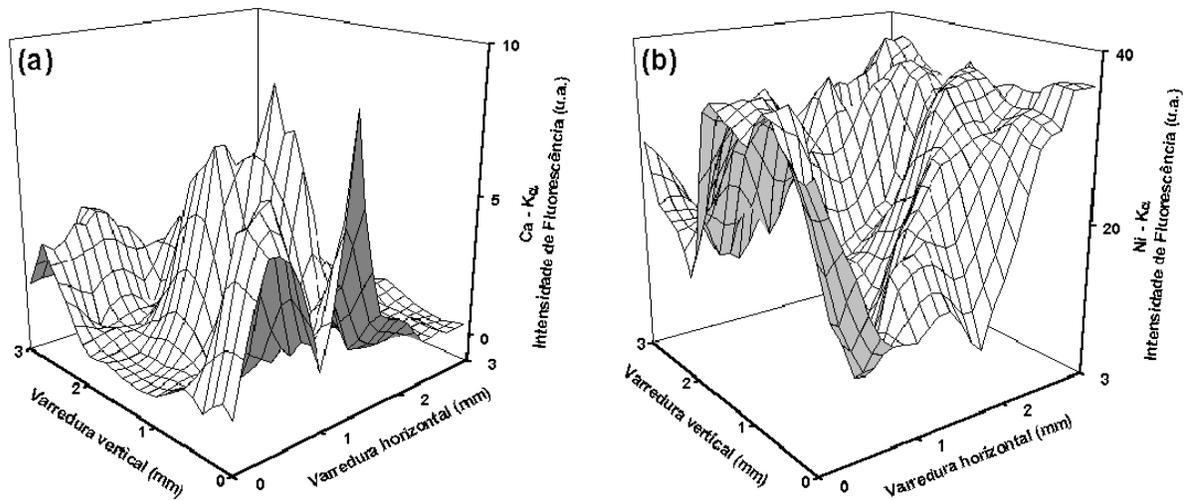


Figura 73: Resultados das varreduras para o Ca (a) e Ni (b) na superfície de impacto do spray térmico.

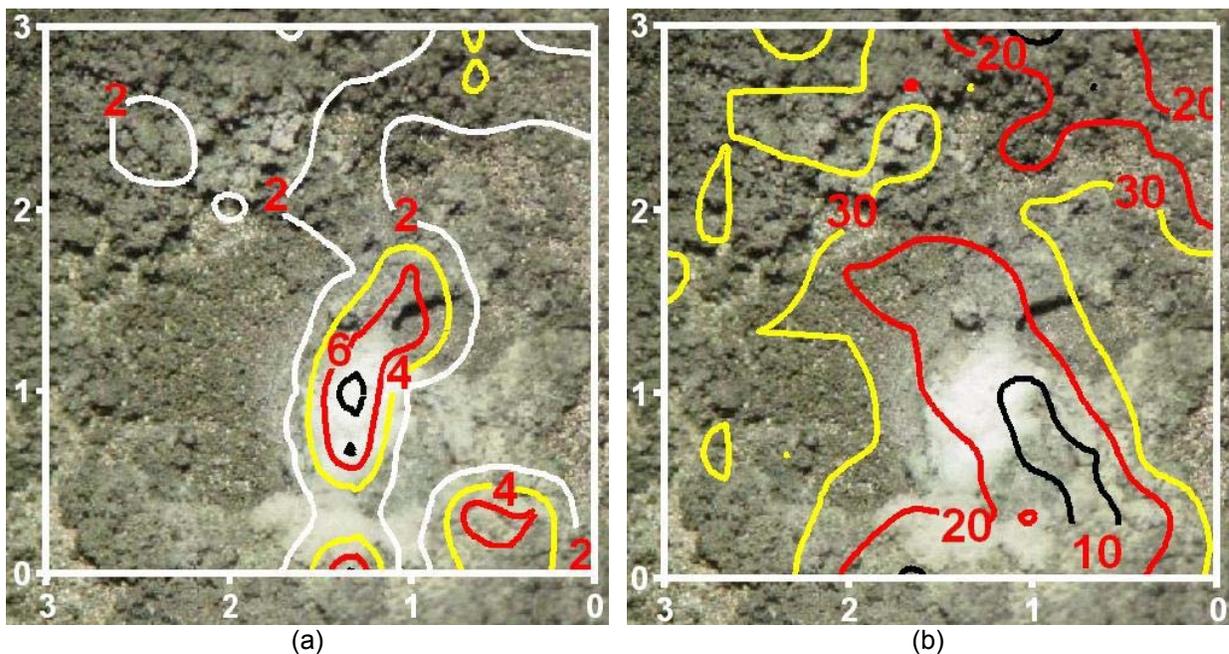


Figura 74: Sobreposição da imagem do local das varreduras da área de impacto do spray térmico (Figura 71) com os gráficos de contorno das superfícies obtidas na varredura para o Ca (a) e Ni (b). As linhas em preto, vermelho e amarelo, representam a intensidade de fluorescência ( $K\alpha$ ) para o Ca (a) e Ni (b).

#### 4.6.2. Mecanismo de atomização

TS-FF-AAS e BIFF-AAS juntamente com um forno de Ni são técnicas totalmente novas. Na literatura são encontrados apenas trabalhos onde foram empregadas soluções aquosas [12,13,31-33]. Nestes cinco trabalhos a questão

sobre os possíveis mecanismos de atomização ficou em aberto, sendo necessárias outras investigações e, talvez, o acoplamento de outras técnicas para a elucidação dos possíveis mecanismos. Entretanto, é possível efetuar uma analogia entre os resultados obtidos neste capítulo com as observações feitas por Dürnberger *et al.* [26,27]. Nos trabalhos apresentados por esses autores foi afirmado que as reações entre o Ni sólido e o analito (Se) se dão de forma heterogênea. Por outro lado as vias (óxido ou carbeto) de atomização não são expostas de forma clara. Desta forma, tendo apenas os dados analíticos obtidos até o momento fica muito difícil propor algum mecanismo de atomização.

Com o auxílio das varreduras efetuadas no LNLS e observando-se a Figura 73 é possível inferir sobre duas prováveis hipóteses: (1) a primeira refere-se ao fato de que o Ni possui especial afinidade pelo Ca; por outro lado, esta afinidade não foi observada para outros metais, tais como, Cu, Fe, Mn, Zn (presentes nas amostras e nos testes com concomitantes), entre outros; (2) outra hipótese seria a compactação ou ataque da superfície de impacto do spray térmico pelo Ca proveniente das amostras ou dos testes com concomitantes. Este ataque pode ter sido ajudado ou de alguma forma catalisado pela presença de HNO<sub>3</sub> nas suspensões e soluções.

## 5. CONCLUSÃO PARCIAL

O sistema proposto é simples e apresentou uma alternativa viável e barata para a determinação de metais em amostras na forma de suspensões. O spray térmico requer apenas um tubo de Ni, capilar cerâmico, espectrômetro de chama e uma bomba de diafragma (bombas peristálticas ou para cromatografia também podem ser empregadas). Com a utilização de suspensões foram efetuadas determinações de Cd, Cu e Pb em amostras biológicas na forma de suspensão. Os mecanismos responsáveis por estas determinações não foram totalmente esclarecidos, sendo necessários estudos futuros. Entretanto, pode ter ocorrido no interior do tubo de Ni, simultaneamente, uma mineralização da suspensão e determinação dos metais. Esta hipótese tem base no fato de que mesmo após um

longo período de trabalho não foram observados quaisquer resíduos carbonáceos no interior do tubo atomizador.

O mapeamento efetuado no LNLS revelou duas possíveis hipóteses de mecanismos de superfície ocorridas na região de impacto do spray térmico. O  $\text{HNO}_3$  pode ter, de alguma forma, contribuído para estas modificações no tubo de Ni.

O spray térmico, devido à sua simplicidade e baixo custo, é uma alternativa adequada para análises de rotina e também para o *screening* de metais tóxicos em diversas amostras biológicas.

O emprego do spray térmico em química analítica é um campo de pesquisa muito extenso, pois diversos fatores podem ser investigados e estudados, tais como, mecanismos de atomização, novos materiais para o tubo atomizador e o capilar de introdução das amostras. É necessário salientar a interação entre o spray térmico e o emprego de sistemas em fluxo em química analítica, sendo possível o emprego de colunas de pré-concentração ou outros dispositivos para melhorar a sensibilidade analítica.

Nas determinações de Cd, Cu e Pb foram necessárias as seguintes condições analíticas: tamanho de partícula da ordem de 100  $\mu\text{m}$ ; concentrações das suspensões variando de 0,1 a 1,0 % em  $\text{HNO}_3$  0,3 mol/L e Triton X-100 0,5% (v/v); capilar cerâmico com d. i. de 0,50 mm; tubo de Ni 201 com 12 e 10 mm de d.e. e d.i., respectivamente, e vazão do fluxo carregador igual a 0,4 mL/min.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] Delves, H. T., *Analyst*, 1970, **95**, 431.
- [2] Kahl, M.; Mitchell, D. G.; Kaufman, G. I.; Aldous, K. M., *Anal. Chim. Acta*, 1976, **87**, 215.
- [3] Matusiewicz, H., *Spectrochim. Acta Part B*, 1997, **52**, 1711.
- [4] Ward, A. F.; Mitchell, D. G.; Aldous, K. M., *Anal. Chem.*, 1975, **47**, 1656.
- [5] Robinson, J. W., *Anal. Chim. Acta*, 1962, **27**, 465.
- [6] Uchida, T.; Iida, C.; Kojima, I., *Anal. Chim. Acta*, 1980, **113**, 361.
- [7] Pulido, P.; Fuwa, K.; Vallee, B. L., *Anal. Biochem.*, 1966, **14**, 393.
- [8] Lau, C. M.; Ure, A. M.; West, T. S., *Anal. Chim. Acta*, 1982, **141**, 213.
- [9] Roberts, D. J.; Kahokola, K. V., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 185.
- [10] Khalighie, J.; Ure, A. M.; West, T. S., *Anal. Chim. Acta*, 1979, **107**, 191.
- [11] Alvarado, J.; Jaffé, R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 1297.
- [12] Gáspár, A.; Berndt, H., *Spectrochim. Acta Part B*, 2000, **55**, 587.
- [13] Gaspar, A.; Berndt, H., *Anal. Chem.*, 2000, **72**, 240.
- [14] Koropchak, J. A.; Veber, M., *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1992, **23**, 113.
- [15] Koropchak, J. A.; Winn, D. H., *Trends Anal. Chem.*, 1987, **6**, 171.
- [16] Conver, T. S.; Yang, J.; Koropchak, J. A., *Spectrochim. Acta Part B*, 1997, **52**, 1087.
- [17] Silva, A. L. C.; Mei, P. R., **Aços e ligas especiais**, Sumaré: Eletrometal S. A. – Metais Especiais, 1988.
- [18] Marriot, J. B.; Merz, M.; Nihoul, J.; Ward, J., **High temperature alloys – Their exploitable potential**, Londres: Elsevier Applied Science, 1988.
- [19] Froes, F. H.; deBarbadillo, J. J., **Structural applications of mechanical alloying**, Ohio: ASM International, 1990.
- [20] Miller-Ihli, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 1129.
- [21] Docekal, B.; Krivan, V., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 521.
- [22] Becker, E., **Mechanically driven diaphragm pumps for use with gases**, Essen: Vulkan-Verlag Publishers, 1997.
- [23] Bohl, W., **Technische Strömungslehre**, Würzburg: Vogel, 1991.
- [24] Daminelli, G.; Katskov, D. A.; Marais, P. J. J. G.; Titarelli, P., *Spectrochim. Acta Part B*, 1998, **53**, 945.
- [25] Pasquini, C.; de Oliveira, W. A., *Anal. Chem.*, 1985, **57**, 2575.
- [26] Dümberger, R.; Esser, P.; Janssen, A., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1987, **327**, 343.
- [27] Dümberger, R.; Esser, P.; Janssen, A., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1988, **328**, 359.
- [28] Analytical Methods Committee, *Analyst*, 1987, **112**, 199.
- [29] Criss, J. W.; Birks, L. S., *Anal. Chem.*, 1968, **40**, 1080.
- [30] Shiraiwa, T.; Fugino, N., *Japanese J. Appl. Physics*, 1966, **5**, 886.
- [31] Gáspár, A.; Szeles, E.; Berndt, H., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **372**, 136.
- [32] Gáspár, A.; Berndt, H., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **372**, 695.
- [33] Davies, J.; Berndt, H., *Anal. Chim. Acta*, 2003, **479**, 215.

## 1. CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta Tese de doutorado mostrou diversas estratégias para obtenção, tratamento e interpretação de dados analíticos. Assim, o leitor pode vislumbrar novas maneiras na interpretação de dados à partir de técnicas espectroscópicas com o emprego de quimiometria, principalmente com a mudança de paradigma na interpretação dos mesmos.

Desta forma, o desenvolvimento desta Tese foi reportado em 4 diferentes capítulos. Os 3 primeiros se relacionaram com a avaliação e o emprego de modificadores químicos para a análise de suspensões. Diferentes e complementares estratégias foram adotadas tanto na aquisição dos dados, quanto na interpretação dos mesmos. Com o planejamento fatorial foi possível não somente diminuir o número de experimentos, mas também explorar de maneira eficiente as informações provenientes dos diversos sistemas analíticos estudados. O emprego do planejamento fatorial é praticamente ilimitado, pois nesta Tese ele foi utilizado desde a otimização das temperaturas de pirólise e atomização para o Al, Cd e Pb (Capítulo 1); otimização das condições de operação da sonda ultra-sônica (Capítulo 2) até estudos de possíveis interferentes na determinação de Cd e Pb por ETAAS e TS-FF-AAS e na determinação de Cu por TS-FF-AAS (Capítulos 2 e 4). O planejamento fatorial foi essencial nesta Tese, pois foi reduzido drasticamente o número de experimentos sem, entretanto, perder informações relevantes.

No terceiro capítulo foi discutida e avaliada a utilização da PCA de imagens como uma ferramenta valiosa no estudo de fenômenos relacionados com superfície. No estudo individual executado com as plataformas utilizadas na determinação de Al foi verificada uma diferença entre a parte central e as demais regiões de uma plataforma. Além disso, foi constatado que o Zr apresentou uma propriedade de preservar a superfície atomizadora. Com todas as estratégias empregadas, foi também vislumbrado um possível mecanismo de atomização para o Al em plataformas recobertas permanentemente com Zr.

As varreduras efetuadas com a  $\mu$ SRXRF (Capítulo 2) mostraram que as plataformas tratadas com modificadores convencionais apresentaram maior número

de elementos residuais do que as plataformas tratadas com Zr. Com a ajuda do PARAFAC (Capítulo 3) foi obtida uma visão global de todas as varreduras. O emprego deste tipo de ferramenta quimiométrica em AAS é raro, porém, bastante inovador. Com as informações do Capítulo 3 abrem-se novas perspectivas analíticas no estudo de fenômenos de superfície, interações entre modificadores e analitos e mecanismos de atomização.

No quarto capítulo foi demonstrada a TS-FF-AAS como uma alternativa simples, barata e rápida para a determinação de metais de média e alta volatilidade em amostras na forma de suspensões. A FAAS é uma técnica analítica muito difundida em diversos laboratórios e a sua adaptação para a TS-FF-AAS requer apenas um tubo metálico, um capilar cerâmico e um elemento de propulsão dos fluidos (bombas de diafragma, pistão, bombas para HPLC e peristálticas). Os limites de detecção obtidos com esta técnica são similares àqueles da ETAAS e a seletividade dos métodos propostos nesta Tese foi totalmente aceitável, de tal forma que foram obtidos resultados exatos.

Esta Tese apresentou estratégias multidisciplinares que, apesar de distintas, se complementam e possibilitam tanto uma mudança na forma de avaliação dos dados, bem como uma maior precisão na interpretação. Salieta-se ainda, o caráter inovador de todas as propostas realizadas aqui, bem como o caráter prático de cada uma delas. Além disso, ficou clara a necessidade de utilizar ferramentas ou estratégias quimiométricas em AAS. Esta união sinérgica possibilita o entendimento, otimização e exploração mais criteriosa dos fenômenos inerentes a AAS, principalmente, quando análises de superfície são efetuadas.