

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**EMPREGO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE
ANÁLISE PARA A DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO E
SELÊNIO EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS/AMBIENTAIS
NA FORMA LÍQUIDA OU EM SUSPENSÕES**

Carlos Emanuel de Carvalho Magalhães

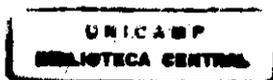
(Químico)

Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade Estadual de Campinas como parte
dos requisitos para obtenção do título de Doutor
em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda

Campinas, 2000

i



200101945

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda, pela sua amizade, incentivo e orientação atuante.

Ao Prof. Dr. Francisco José Krug do CENA/USP, pela sua amizade e colaboração valiosa ao longo desta tese, principalmente por ter disponibilizado seu laboratório do CENA/USP para a realização de incontáveis experimentos ao longo desses anos.

Ao Prof. Dr. Célio Pasquini pelas instruções operacionais do espectrógrafo mecanizado.

Ao IQ – UNICAMP pela oportunidade oferecida.

À Bel e ao André, da Secretaria de Pós-Graduação do IQ-UNICAMP, pela excelente qualidade dos serviços prestados.

Aos Drs. Nelson Maniasso e Éder Cláudio Lima pelas oportunas colaborações durante o experimental desta tese.

Ao CNPq, pela bolsa de estudo concedida.

Aos meus colegas (amigos) do IQ–UNICAMP e da Seção de Química Analítica do CENA/USP, pela convivência dentro e fora do laboratório: Edénir, Flávia, Clésia, Carminha, Alex, Glauco e Jonas.

Ao Dornival “Billy” Pompeo, Sheila B. Silva, Iolanda “Tatinha” A. Rufini, e Valdemir A. F. de Barros, pelo apoio técnico.

A todos aqueles, os quais cometi a injustiça de esquecer de citar o nome, pesquisadores, alunos de pós-graduação e estagiários da do IQ – UNICAMP e da Seção de Química Analítica (CENA/USP), que de alguma forma puderam contribuir para a realização deste trabalho.

Trabalho, trabalho, trabalho

Autor desconhecido

À minha família: minha filha Camila, Esposa Ivany, minha mãe Vania, meu pai Carlos (*in memoriam*), meus irmãos, Guto, Carla, Jorge, Ana, e, em especial à minha estimada tia Maria José, pelo apoio incondicional dado aos meus estudos durante a minha adolescência. Não foi em vão...

DEDICO

RESUMO

Três novos métodos de análise são propostos para a determinação de alumínio ou selênio em amostras de interesse ambiental e/ou alimentício. No primeiro deles empregou-se a espectrografia de rede plana acoplada a um sistema FIA para a determinação direta de Al em suspensões de sedimento. A detecção se deu por um arranjo linear de fotodiodos, substituindo a tradicional chapa fotográfica. O lantânio foi usado como padrão interno. A frequência analítica foi de 40 h^{-1} e exatidão foi acessada com CRM's. Em outro método, Al é determinado diretamente em suspensões de chá e café por ETAAS. Triton X-100 foi empregado como agente estabilizante. Para se avaliar o teor de Al extraído, a fase líquida também foi analisada separadamente. A repetibilidade (RSD) foi de 8,2%. A massa característica e o limite de detecção foram 45 pg e $2 \mu\text{g l}^{-1}$, respectivamente. Finalizando, determinou-se Se em peixes e mariscos por TCAAS. As amostras foram decompostas em um forno de microondas e, então, tratadas com uma resina de troca iônica, com o intuito de separar o analito das espécies interferentes para, posteriormente, serem analisadas. Propõe-se a mistura $8 \mu\text{g Rh} + 4 \mu\text{g Mg}$ como modificador químico. A massa característica e o limite de detecção foram 41 pg e 45 pg , respectivamente. A precisão entre as medidas foi de 4,8 % e a exatidão foi acessada com CRM's.

ABSTRACT

Aluminium and selenium determination were evaluated in 3 different methods concerning environmental and/or food samples. First, a FIA-AES (spectrography) system was used for direct Al determination in sediment slurries. The spectrometer was modified to employ a photodiode array detector instead of photographic plates. Lanthanum was used as internal standard. The sample throughput was about 40 h^{-1} and the accuracy was assessed by means of CRM's. Secondly, Al was determined in tea and coffee by ETAAS. Slurries were suspended in presence of Triton X-100 medium. For extracted Al determination only the liquid phase was introduced into the graphite furnace. The RSD for repeatability was about 8.2 %. The characteristic mass and the detection limit were 45 pg and $2 \mu\text{g l}^{-1}$, respectively. Finally, selenium was determined in seafood by TCAAS. The sample was decomposed by means of a microwave oven and then treated with an ion-exchange resin arranged in a simple flow system in order to retain interfering species. Next, treated solutions were analyzed by TCAAS. A mixture $8 \mu\text{g Rh}$ plus $4 \mu\text{g Mg}$ was adopted as chemical modifier. The characteristic mass and the detection limit were 41 pg and 45 pg, respectively. The RSD for repeatability was 4.8 % and the accuracy was assessed by using CRMs.

CURRÍCULUM VITAE RESUMIDO

Carlos Emanuel de Carvalho Magalhães

1. DADOS PESSOAIS

Filiação: Carlos Magalhães Sousa
Maria Vânia de Carvalho Magalhães
Endereço: Rua Minas Gerais, 149 Apto. 1314
CEP: 60441-030 Bela Vista Fortaleza-CE
Telefone: 0XX-85-482-3757 *e-mail:* cecmagal@ufc.br
Nacionalidade: Brasileira
Naturalidade: Fortaleza-CE
Data de Nascimento: 22 de maio de 1969
Estado Civil: Casado

2. ESCOLARIDADE

2.1. Pós-Graduação

2.1.1. Doutorado em Química Analítica
Universidade Estadual de Campinas / Campinas-SP
Instituto de Química
Período: 1996 – 2000

2.1.2. Mestrado em Química Analítica
Universidade de São Paulo / São Carlos-SP
Instituto de Química de São Carlos
Período: 1994 – 1996

2.1.3. Curso de Especialização em Métodos Instrumentais de Análise
Universidade Federal do Ceará / Fortaleza-CE
Departamento de Química Analítica e Físico-Química
Período: 1992-1993.

2.2. 3º Grau

Universidade Federal do Ceará / Fortaleza-CE
Título: Bacharel em Química.
Período: 1986-1992.

3. COMUNICAÇÕES EM ENCONTROS E CONGRESSOS

3.1. Emprego da Técnica de Amostragem de Suspensões na Determinação de Alumínio em Amostras de Café e Chá por Espectrometria de Absorção Atômica: Otimização do Método. MAGALHÃES, C. E. C.; LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; ARRUDA, M. A. Z. IQSC - Universidade de São Paulo IX Encontro Nacional de Química Analítica, São Carlos-SP. Período: 31 de agosto a 03 de setembro de 1997.

3.2. Use of Slurry Sampling Technique for Determination of Aluminium in Tea and Coffee by Electrothermal Atomic absorption Spectrometry

MAGALHÃES, C. E. C.; LIMA, E. C.; KRUG, F. J. and ARRUDA, M. A. Z.

Fifth Rio Symposium on Atomic Spectrometry / Cancún, México

Período: 04-10 de outubro de 1998.

3.3. Analysis of Slurry Samples by Multichannel Arc/Spark Emission Spectrometry Using Monossegmented Flow Analysis: Determination of Aluminium in Sediments (as oral presentation)

MAGALHÃES, C. E. C.; PASQUINI, C. and ARRUDA, M. A. Z.

5th Rio Symposium on Atomic Spectrometry / Cancún, México

Período: 04-10 de outubro de 1998.

3.4. Atomização Eletrotérmica do Selênio em Filamento de Tungstênio.

MAGALHÃES, C. E. C.; KRUG, F. J.; ARRUDA, M. A. Z.

Universidade de Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

X Encontro Nacional de Química Analítica, Santa Maria-RS.

Período: 31 de agosto a 03 de setembro de 1999.

4. PRINCIPAIS PUBLICAÇÕES

4.1. Direct Determination of Mercury in Sediments by Atomic Absorption Spectrometry.

MAGALHÃES, C. E. C.; KRUG, F. J.; H. FOSTIER, A. H. and BERNDT, H

Journal of Analytical Atomic Spectrometry 1997, Vol. 12, 1231-1234.

4.2. Amostragem de Suspensões: Emprego da Técnica na análise Direta de Amostras.

MAGALHÃES, C. E. C. and ARRUDA, M. Z.

Química Nova, 1998, Vol. 21 (4), 459.

4.3. Direct Analysis of Coffee and Tea for Aluminium Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry

MAGALHÃES, C. E. C.; LIMA, E. C.; KRUG, F. J. and ARRUDA, M. Z.

Mikrochimica Acta, 1999 Vol. 132 (1), 95-100.

4.4. Analysis of Slurry Samples by Multichannel Arc/Spark Emission Spectrometry Using Monossegmented Flow Analysis: Determination of Aluminium in Sediments

MAGALHÃES, C. E. C.; PASQUINI, C. and ARRUDA, M. A. Z.

Laboratory Robotics and Automation 2000, Vol. 12 (1), 46-52.

4.5. Selenium Determination in Seafoods by ETAAS on a Tungsten Coil Atomizer

MAGALHÃES, C. E. C.; KRUG, F. J. and ARRUDA, M. A. Z.

Em fase de redação.

APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS

O tema desta Tese de Doutorado é abordado em dois capítulos distintos. No primeiro capítulo, propõem-se dois novos métodos analíticos para a determinação de alumínio, sendo que, no primeiro deles, o alumínio é determinado em sedimentos por meio da análise espectrográfica, visto que a demanda para a determinação de alumínio em materiais geológicos tem-se tornado cada vez maior, pois a avaliação dos teores de alumínio em sedimentos pode ser usada como um parâmetro de normalização com o propósito de se determinar os níveis basais¹ para alguns elementos-traço. No tocante à técnica de análise empregada, apesar de não possuir mais uma importância expressiva no contexto atual da Química Analítica, a espectrografia foi resgatada, acoplando-se à ela, um sistema de análise por injeção em fluxo monossegmentado para transportar a amostra na forma de suspensão. Isso pode ser útil no sentido de resolver alguns problemas analíticos, como por exemplo, a introdução da amostra.

No segundo método proposto, o alumínio é determinado em chá e café empregando-se espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) em forno de grafite. O conhecimento do papel do alumínio na saúde humana tem crescido bastante nos últimos anos, pois trata-se de um dos elementos mais comumente presentes na crosta terrestre e também por estar supostamente ligado a uma variedade de distúrbios neurológicos e comportamentais. Por esta razão, tem surgido o interesse em se avaliar os níveis de alumínio nos mais variados gêneros alimentícios, considerando-se a ampla faixa de concentração em que o alumínio ocorre nesse tipo de amostra. Da

¹ Nível basal: razão natural entre a concentração do elemento-traço e um normalizador cuja concentração não esteja relacionada com a atividade antropogênica.

mesma maneira que a determinação de alumínio em sedimentos, as amostras de chá e café foram introduzidas e analisadas por ETAAS na forma de suspensões, com a finalidade de simplificar as operações preliminares, agilizando a análise e minimizando a participação humana em algumas etapas do processo analítico.

O segundo capítulo descreve o desenvolvimento de um método para a determinação de selênio em peixes e mariscos. O selênio é um elemento essencial para o ser humano e mamíferos em geral. Tanto a deficiência quanto o excesso de selênio nesses animais pode levar a sérios problemas de saúde. Com base nessa afirmativa, é importante que se monitore o teor de selênio na dieta alimentar diária. Para isso, desenvolveu-se um método para a determinação desse elemento por ETAAS com atomização em filamento de tungstênio. Durante o desenvolvimento desta nova metodologia, realizou-se uma série de estudos sobre o comportamento do selênio em ETAAS em superfície metálica (filamento de tungstênio) com relação ao uso de modificadores químicos e o efeito dos concomitantes.

Esta tese de doutoramento tem, portanto, como objetivo principal, o desenvolvimento de novos métodos analíticos direcionados para a determinação de alumínio e selênio em amostras de interesse alimentício e/ou ambiental, na forma líquida ou de suspensão, mediante o emprego de técnicas espectroscópicas de análise.

SIGLAS MENCIONADAS NA TESE

AAS (Atomic Absorption Spectrometry): Espectrometria de Absorção Atômica

AFS (Atomic Fluorescence Spectrometry): Espectrometria de Fluorescência Atômica

DCP (Direct current plasma): Plasma de Corrente Contínua

ETAAS (electrothermal atomic absorption spectrometry): Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica

ETA-LE-AFS (electrothermal atomizer-laser excited-atomic fluorescence spectrometry): Espectrometria de Fluorescência Atômica com Excitação a Laser e Atomização Eletrotérmica

ETV-ICP-AES (electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry): Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado e Vaporização Eletrotérmica

ETV-ICP-MS (electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry): Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado e Vaporização Eletrotérmica

FAAS (flame atomic absorption spectrometry): Espectrometria de absorção Atômica com Atomização em Chama

FAES (flame atomic emission spectrometry): Espectrometria de Emissão Atômica com Atomização em Chama

FIA (Flow Injection Analysis): Análise por Injeção em Fluxo

ICP-AES (inductively coupled plasma atomic emission spectrometry): Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado

ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry): Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

RSD (relative standard deviation): desvio padrão relativo

TCAAS (tungsten coil atomic absorption spectrometry): Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Filamento de Tungstênio

THGA (transversally heated graphite atomizer): Atomizador de Grafite com Aquecimento Transversal

STPF (Stabilised Temperature Platform Furnace): Forno de plataforma com temperatura estabilizada

ÍNDICE

<i>Capítulo I – Aplicação da técnica de amostragem de suspensões para a determinação de alumínio</i>	01
1. Técnica de Amostragem de Suspensões: Revisão bibliográfica	01
1.1. Introdução.....	01
1.2. Preparo da Suspensão / Introdução da Amostra	02
1.3. Estabilização/Homogeneização da suspensão	03
1.3.1. Homogeneização	04
1.3.2. Agentes estabilizantes	06
1.4. Pré-tratamento da suspensão	08
1.5. Tamanho de partícula	09
1.6. Concentração da suspensão	11
1.7. Curva analítica	12
1.8. Modificadores Químicos	13
1.9. Precisão e exatidão	16
1.10. Aplicações	16
2. Alumínio: ocorrência, importância e técnicas empregadas.....	21
2.1. Ocorrência e importância	21
2.2. Técnicas de análise.....	23
2.2.1. Materiais geológicos.....	23
2.2.2. Gêneros alimentícios	25
3. Análise de suspensão de amostras por espectrografia usando sistema de injeção em fluxo monossegmentado: determinação de alumínio em sedimentos	27
3.1. Material e Método.....	27
3.1.1. Instrumentação, materiais, reagentes e amostras	27
3.1.2. Sistema de fluxo monossegmentado acoplado ao espectrógrafo	30
3.1.3. Preparo e análise das suspensões	32
3.1.4. Preparo e análise das amostras solubilizadas	33
3.2. Resultados e Discussão	35
3.2.1. Uso do método do padrão interno	35
3.2.2. Volume introduzido de amostra.....	37
3.2.3. Estudo da vazão.....	38
3.3. Figuras de Mérito	39
4. Análise direta de chá e café para a determinação de alumínio por ETAAS em forno de grafite.....	42
4.1. Material e Método.....	42
4.1.1. Instrumentação, materiais, reagentes e amostras	42
4.1.2. Preparo e análise das suspensões e da fase líquida.....	44
4.1.3. Preparo e análise das amostras mineralizadas.....	44
4.2. Resultados e Discussão	45
4.2.1. Estabilidade das suspensões	46

4.2.2. <i>Acidez</i>	49
4.2.3. <i>Otimização das condições do forno</i>	50
4.2.4. <i>Seletividade</i>	53
4.3. Figuras de Mérito	55
4.4. Análise das Amostra de Chá e Café	56
5. Conclusão do Capítulo I	58
6. Bibliografia	59
<i>Capítulo II – Determinação de Selênio em Organismos Marinhos por ETAAS com Atomização em Filamento de Tungstênio</i>	
1. Selênio e técnicas de análise: revisão bibliográfica	67
1.1. Selênio: ocorrência e importância	67
1.2. Técnicas de análise empregadas para a determinação de selênio em alimentos	70
1.3. Atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio	72
2. Material e Método	75
2.1. Instrumentação, materiais, reagentes e amostras	75
2.2. Preparo e análise das amostras	78
3. Resultados e Discussão	80
3.1. Volume Introduzido de Amostra	80
3.2. Otimização do Programa de Aquecimento do Filamento de Tungstênio	81
3.2.1. <i>Secagem</i>	81
3.2.2. <i>Pirólise</i>	82
3.2.3. <i>Atomização</i>	84
3.3. Seletividade	85
3.3.1. <i>Modificadores químicos</i>	85
3.3.2. <i>Resina de troca iônica</i>	89
4. Figuras de Mérito	91
5. Determinação de Selênio em Organismos Marinhos	93
6. Conclusão do Capítulo II	95
CONCLUSÃO GERAL DA TESE	96
7. Bibliografia (capítulo II)	97

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de trabalhos publicados por ano no período de 1974 até março de 2000	21
Figura 2. Esquema do sistema de fluxo para introdução de suspensões de sedimentos na fonte de excitação do espectrógrafo	31
Figura 3. Fonte de excitação do espectrógrafo	32
Figura 4. Monitoramento da potência e temperatura durante a decomposição das amostras em forno de microondas	34
Figura 5. Espectro de emissão obtido a partir de 25 µl de uma suspensão de HR-1 Humber River Sediment 0,25 mg ml ⁻¹	36
Figura 6 Desvio padrão relativo (RSD) em função da razão dos sinais analíticos de alumínio e lantânio (Al/La)	37
Figura 7. Efeito do volume de amostra em função do sinal relativo de alumínio em suspensões de HR-1 Humber River Sediment	38
Figura 8. Efeito da vazão do fluido carregador do sistema de fluxo monossegmentado em função do sinal relativo de alumínio	39
Figura 9. Curvas analíticas de calibração: preparadas a partir de diferentes concentrações de suspensão de HR-1 Humber River Sediment (■) e com soluções analíticas de referência (●)	40
Figura 10. Estabilização da suspensão de café na ausência e presença dos agentes estabilizantes	48
Figura 11. Efeito da concentração de Triton X-100 na estabilização da suspensão de café	49
Figura 12. Efeito da concentração de HNO ₃ na estabilização da suspensão de café	50
Figura 13. Curvas de pirólise e atomização para 20 µl de uma solução 100 µg l ⁻¹ Al ou 20 µl de uma suspensão de café (0,1 % m/v)	52
Figura 14. Efeito dos concomitantes na atomização de 10 µl de uma solução 100 µg l ⁻¹ Al	54
Figura 15. Curvas analíticas de calibração obtidas a partir de soluções analíticas de referência de alumínio (■) e por adição de padrão na suspensão de café (●)	55
Figura 16. (a) Forno de filamento de tungstênio e (b) Filamento de tungstênio	76
Figura 17. Sistema de fluxo para a separação das espécies potencialmente interferentes e íons selenato	79
Figura 18. Curvas de pirólise para: (a) Cu, Ni, Pd ou sem modificador e (b) V, Rh, Mg ou sem modificador.	84
Figura 19. Efeito da diferença de potencial na atomização de 1,5 ng de selênio durante 2 s	85

Figura 20. Efeito do tempo na atomização de 1,5 ng de selênio. Diferença de potencial de a atomização: 13 V.....	85
Figura 21. Curva de pirólise para 1,0 ng de Se na presença de (8 µg Rh + 4 µg Mg) como modificador químico	88
Figura 22. Curva analítica de calibração construída com soluções analíticas de referência de selênio na presença de (8 µg Rh + 4 µg Mg) como modificador químico	93
Figura 23. Perfil do sinal analítico do selênio em (a) 20 µl de Oyster Tissue (0,5000 g/25 ml, e (b) 10 µl de solução padrão de selênio 100 µg l ⁻¹	94

INDICE DE TABELAS

Tabela 1. Aplicações da técnica de amostragem de suspensões em química analítica	17
Tabela 2. Programa de aquecimento do forno de microondas para a decomposição das amostras de sedimento	34
Tabela 3. Características analíticas do método proposto	41
Tabela 4. Concentrações de alumínio (mg g^{-1}) encontradas nos sedimentos analisados por ICP-AES ($n=3$) e por espectrografia ($n=5$)	41
Tabela 5. Programa de aquecimento do forno de grafite	45
Tabela 6. Características analíticas do método proposto	55
Tabela 7. Concentrações de alumínio ($\mu\text{g g}^{-1}$) em amostras de chá/café obtidas pela análise das suspensões e das amostras mineralizadas ($n=5$)	57
Tabela 8. Programa de aquecimento do forno de microondas para decomposição das amostras de organismos marinhos	78
Tabela 9. Programa de aquecimento do filamento de tungstênio para o método proposto	80
Tabela 10. Efeito do volume introduzido de amostra na sensibilidade e precisão do método	81
Tabela 11. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de 5 μg de Rh como modificador químico	87
Tabela 12. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de 5 μg de Mg como modificador químico	87
Tabela 13. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de (8 μg Rh + 4 μg Mg) como modificador químico	89
Tabela 14. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de (8 μg Rh + 4 μg Mg) como modificador químico, após tratamento prévio com a resina AG-50	91
Tabela 15. Efeito da diferença de potencial de pirólise na exatidão do método	92
Tabela 16. Determinação de selênio em organismos marinhos pelo método proposto	93

CAPÍTULO I

Aplicação da técnica de amostragem de suspensões para a determinação de alumínio.

1. Técnica de Amostragem de Suspensões: Revisão bibliográfica

1.1. Introdução

Um dos principais objetivos da Química Analítica atual é o aperfeiçoamento e a simplificação das operações preliminares, no sentido de minimizar a participação humana em todas as etapas do processo analítico.

Nos métodos convencionais de análise, as amostras são analisadas na forma de solução [1,2]. Tradicionalmente, a amostra é preparada por meio de técnicas de decomposição, tais como, fusão ou dissolução ácida, sendo que as mesmas levam à uma diluição da concentração do analito na amostra (em sua forma final), ocasionando perda em sensibilidade no procedimento analítico e, às vezes, requeendo uma massa de amostra maior do que aquela necessária, caso pudesse vir a ser analisada diretamente.

Uma maneira viável de se minimizar e/ou eliminar esses problemas é através da amostragem sólida [3-7], na qual a determinação do analito é realizada diretamente, no sentido de se evitar contaminações e/ou perdas do analito durante o preparo da amostra, minimizando o uso de reagentes e tornando a análise mais rápida.

No que se refere à etapa de preparo das amostras, a análise direta de suspensões, originalmente empregada por Brady e colaboradores [8,9] na determinação de zinco e chumbo em folhas e sedimentos marinhos, oferece algumas vantagens quando comparada às técnicas convencionais de

solubilização de amostras [10,11]. Dentre elas, pode-se citar as mesmas vantagens da amostragem sólida e, ainda, que a curva analítica pode ser obtida, em muitos casos, com o emprego de soluções de referência do analito [12]. Por isso, a amostragem de suspensões tem sido usada com sucesso para a análise de vários materiais, tais como, pigmentos [13,14], materiais geológicos [15-20] e gêneros alimentícios [21-40], entre outros [41-51].

1.2. Preparo da Suspensão / Introdução da Amostra

Ao se introduzir a amostra na forma de suspensão, minimizam-se muitos dos problemas associados à amostragem direta de sólidos, tais como, geração de absorção não específica devido à absorção molecular e espalhamento de radiação por partículas da matriz [50], o estabelecimento de uma calibração [52,53] com padrões sólidos, a disponibilidade destes padrões [52] e a dificuldade de se obter uma porção representativa da amostra [11,50], implicando em repetidas micro-pesagens para uma única análise.

A distribuição não-homogênea do analito no material sólido e os erros associados à pesagem e operação de transferência na amostragem direta de sólidos são minimizados na amostragem de suspensões [54]. Isso mostra que, embora a mesma exatidão seja obtida, a amostragem de suspensões é mais precisa do que a amostragem direta de sólidos [52]. Entretanto, a técnica de amostragem de suspensões está sujeita a riscos de contaminação durante a moagem e a adição de agentes estabilizantes.

Ainda é válido ressaltar, que existe a possibilidade de se mecanizar etapas como a decomposição da amostra, com o intuito de se facilitar a sua introdução, bem como a adição de reagentes e/ou modificadores químicos por meio de um sistema em fluxo [10,11,13,27,39].

A quantidade de material sólido que é pesado depende da concentração do analito e do volume final da diluição da suspensão. Para amostras difíceis de se homogeneizar, consegue-se melhorar a precisão quando se aumenta a massa da amostra [52]. Logo após o preparo da suspensão, a amostra sólida deve estar distribuída igualmente no volume do líquido. Dessa forma combina-se as vantagens das amostragens sólida e líquida visto que apenas uma pesagem é requerida por amostra e, assim, é possível empregar diversos procedimentos de introdução de amostras (sistemas de fluxo, micropipetas e auto-amostradores), com um mínimo de tratamento [10,52]. Além disso, as suspensões podem ser introduzidas em equipamentos das mais diversas técnicas: ICP-MS [42,55], ICP-AES [18,43,56,57], FAES [60], FAAS [13,26,37,41,61], ETA-LE-AFS [62], ETV-ICP-AES [58,59,63-70] ETV-ICP-MS [71-74] e mais facilmente ainda em ETAAS [11,15-17,19-22,25-36,38-40,45-50,54,75], onde maiores tamanhos de partículas podem ser tolerados e o transporte do analito para o atomizador é realizado por meio de uma micropipeta ou de um auto-amostrador [11,52,54].

1.3. Estabilização/Homogeneização da suspensão

A suspensão deve ser estabilizada e/ou homogeneizada imediatamente antes do início da análise para garantir a representatividade da amostra [52,75], sendo esse, um dos fatores mais críticos no emprego da amostragem de suspensões [10,76]. A homogeneização da suspensão pode ser obtida por agitação mecânica da amostra ou pela estabilização das partículas mediante o uso de agentes tixotrópicos espessantes ou outro reagente que aumente a viscosidade da suspensão [54].

No caso de um sistema mecanizado de análise, Stephen *et al.* [22] sugerem a estabilização das partículas da suspensão, uma vez que a agitação da amostra é

desnecessária, e a introdução de uma alíquota da suspensão no atomizador é realizada usando-se um amostrador convencional. Por outro lado, independentemente da mecanização da análise, Miller-Ihli [54] faz um alerta sobre o uso de agentes tixotrópicos viscosos, pois, em concentrações elevadas podem formar um resíduo carbonáceo no interior do tubo de grafite, mesmo quando se usa outra etapa adicional de pirólise para minimizar este problema. Como agravante, também há o risco de aderência do material nas paredes do tubo capilar do auto-amostrador. Por estas razões, a homogeneização da suspensão por agitação ultra-sônica é recomendada [54]. Em geral, as suspensões são preparadas em um béquer e agitadas por um período de 3 a 5 min com a finalidade de se obter uma distribuição homogênea do material sólido [52]. A seguir, a agitação é interrompida e uma alíquota da amostra é introduzida no atomizador [77]. A alíquota da amostra também pode ser introduzida sob condições de agitação contínua [78].

1.3.1. Homogeneização

Diversos dispositivos homogeneizadores tais como agitadores magnéticos [79], misturadores por efeito vortex [80,81], aqueles baseados no borbulhamento de gás [82] ou agitadores ultra-sônicos [83-86] demonstraram boa eficiência. Destes, apenas o agitador ultra-sônico foi usado para compor um sistema completamente mecanizado [87]. A eficiência destes dispositivos depende, essencialmente, da taxa de sedimentação do material suspenso [76].

Hinds *et al.* [88] relataram que a sedimentação diferencial das partículas de amostras de solos, contribuíram para uma recuperação incompleta de chumbo. Por conta disso, pode-se esperar erros maiores quando o analito estiver

distribuído predominantemente em partículas de alta densidade, as quais sofrem uma sedimentação mais rápida.

Lynch e Littlejohn [89] desenvolveram um método para a determinação de chumbo em alimentos no qual empregaram um mini-bastão de agitação revestido com politetrafluoretileno (PTFE), e que era usado em combinação com o auto-amostrador para facilitar a homogeneização da suspensão no próprio recipiente do auto-amostrador antes da análise.

Hinds e Jackson [81] observaram que o bastão magnético era inadequado para algumas aplicações, como no caso dos solos, porque, frequentemente, algumas partículas da amostra ficavam aderidas ao bastão devido às suas propriedades magnéticas.

Um dispositivo semelhante foi desenvolvido por Haraldsen e Pougnet [90] para a determinação de berílio em suspensão de carvão. O auto-amostrador foi modificado, de modo a permitir a agitação magnética contínua da suspensão. Soluções analíticas de referência foram utilizadas na calibração e nitrato de magnésio como modificador químico.

Bendicho e Loos-Vollebregt [82] descreveram um procedimento no qual se obtinha uma homogeneização eficiente da suspensão ao fluir argônio através de um tubo capilar introduzido na suspensão. Este sistema era de fácil manipulação, permitia que a amostra fosse preparada diretamente no recipiente do auto-amostrador, e não foi necessário o uso de agentes estabilizantes ou dispositivos especiais para agitação. O desvio das medidas obtido na determinação de Co, Cr, Cu, Fe, Mn e Ni, em diversas amostras de vidro, permaneceu em torno de 6%. Entretanto, a eficiência de homogeneização dependeu substancialmente do tamanho de partícula e da característica da amostra sólida.

Dentre as técnicas de homogeneização de suspensões, a agitação ultrassônica parece ser a mais eficiente porque proporciona uma extração parcial da espécie de interesse para a fase líquida da suspensão, devido à ação do ultra-som quando as suspensões são preparadas em meio ácido [10,54,86].

Miller-Ihli [87,91,92] mecanizou o sistema, combinando a agitação ultrassônica e a introdução da amostra com o auto-amostrador. Este dispositivo de agitação é comercializado pela firma Perkin-Elmer.

1.3.2. Agentes estabilizantes

Uma outra maneira de se obter a homogeneidade da suspensão é através do uso de agentes estabilizantes. A necessidade de empregá-los decorre da taxa de sedimentação do material suspenso. Em soluções aquosas, o material sólido sofre uma rápida sedimentação, provavelmente devido a sua natureza hidrofóbica [76]. A taxa de sedimentação depende da viscosidade do meio diluente, do raio das partículas da amostra e das densidades do meio diluente e do material sólido [76].

Existem vários compostos (ou mistura deles) descritos na literatura que atuam como agentes estabilizantes. Dentre estes, pode-se citar o Triton X-100 [11,13,16,18,24,25,36,39,40,45,48,49,55,84,91-93], Viscalex [16,21,22,94-96], glicerol [11,16,20,49,97], glicerol-água e glicerol-metanol [98], etanol [27-32], isopropanol [98], HMP-hexametafosfato [13,99], emulsão Antifoam B [86,100], trietanolamina [101], nonilfenilpolioxieter [102], pirofosfato de sódio [18,102] e aerosol OT [102]. Sendo que os dois últimos agentes ainda impedem a formação de espuma, minimizam a agregação indesejável das partículas e melhoram a eficiência de transporte da suspensão no sistema de nebulização [10]. A capacidade de estabilização desses agentes é extremamente dependente das

características da amostra, concentração do agente estabilizante e tamanho de partícula [76,96]. Todo o cuidado deve ser tomado na adição destes agentes à suspensão, quer pela possibilidade de contaminação, pela diminuição da vida útil do tubo de grafite ou pelo aumento da dificuldade de atomização (em alguns casos é necessário, na atomização eletrotérmica, a adição de uma etapa na programação de temperatura, exclusivamente para eliminar o agente estabilizante) [76].

Majidi e Holcombe [103] apontaram que o intervalo de tempo entre a mistura completa da suspensão e a retirada de uma alíquota para a análise pode ser aumentada no caso de se empregar um meio altamente viscoso, com uma densidade similar àquela das partículas.

Littlejohn *et al.* [96] evitaram a sedimentação da amostra empregando Viscalex em uma concentração acima de 2 % (v/v). Entretanto, alguns inconvenientes foram observados, tais como, o aumento do valor do branco para altas concentrações de Viscalex, a necessidade de etapa adicional de pirólise e a perda de precisão decorrente da dificuldade em se pipetar a suspensão diluída nesse estabilizante viscoso [21].

Miller-Ihli [11] observou que não houve uma diferença significativa no comportamento da curva analítica de calibração entre soluções analíticas de referência preparadas com ou sem Triton X-100, tomando-se as medidas em área de pico para a determinação simultânea de oito elementos em amostras vegetais por ETAAS. Entretanto, ocorreram diferenças dramáticas entre as soluções analíticas de referência preparadas com e sem Triton X-100 quando as medidas foram tomadas em altura de pico.

Amostras viscosas contendo partículas sólidas (*e.g.*, derivados de petróleo) podem ser amostradas como suspensões. Em alguns casos, faz-se necessária a

diluição com um solvente orgânico no intuito de se facilitar a introdução da amostra [104].

1.4. Pré-tratamento da suspensão

O pré-tratamento pode ser útil na extração do analito de interesse para a fase líquida porque, dependendo da técnica empregada, faz-se necessário apenas a decomposição parcial da suspensão, no sentido de melhorar a repetibilidade e diminuir o tempo de análise [31,93,105,106] se comparado aos procedimentos de ataque ácido e fusão convencionalmente usados [1,2].

Fagioli *et al.* [107,108] foram os precursores do uso da oxidação parcial por via úmida em vários materiais biológicos mediante o emprego de ácido sulfúrico concentrado e subsequente determinação da suspensão carbonácea formada.

Hoenig *et al.* [97] relataram as dificuldades em estabilizar suspensões de sedimentos e material particulado devido ao grande tamanho de partículas. A alternativa encontrada para resolver o problema, foi realizar o pré-tratamento da suspensão ao se adicionar uma pequena quantidade de ácido nítrico diretamente no recipiente do auto-amostrador. Também foi destacado que a extração parcial causada pelo ácido melhorou significativamente a precisão e a exatidão do método proposto.

Cada vez mais tem aumentado o número de publicações destacando a solubilização de suspensões com o emprego de forno de microondas [109-119]. Esse procedimento torna mais fácil a decomposição de matrizes problemáticas e obtém-se um tempo de decomposição extremamente curto quando comparado aos métodos convencionais de decomposição [120,121].

1.5. Tamanho de Partícula

A objeção mais comumente encontrada nas potencialidades da técnica de análise direta de suspensões é a necessidade de se trabalhar com um tamanho de partícula diminuto, usualmente menor que 200 μm . [76]. O tamanho de partícula do material sólido usado para preparar a suspensão influencia a estabilização, deposição, eficiência de nebulização. Como consequência, a precisão e a exatidão podem ser afetadas [10,76].

A temática do melhor tamanho de partícula é um ponto bastante discutido e depende da composição da amostra. Em todo caso, este efeito é mais acentuado nos sistemas de introdução de amostras com nebulizadores que geram um aerossol, como em FAAS e ICP-AES [3] e, provavelmente por essa razão, tem-se dado maior preferência aos sistemas eletrotérmicos na análise direta de suspensões [11,15-17,19-22,25-36,38-40,45-50,54,75,76].

De acordo com Bastiaans e Hieftje [122], é necessário proceder a moagem da amostra sólida até atingir o tamanho de partícula de 1 μm no sentido de se obter melhor exatidão com a técnica de emissão atômica. Entretanto, essa operação laboriosa pode ser parcialmente contornada usando-se a atomização eletrotérmica por causa de sua maior tolerância ao tamanho de partícula.

Outros autores [54,123] destacaram ser possível obter recuperações completas usando atomização eletrotérmica se o tamanho de partícula for inferior a 25 μm .

Normalmente, o melhor tamanho de partícula para se trabalhar em ICP-AES está ao redor de 10 μm , entretanto, Yongchao *et al.* [58] obtiveram 100 % de recuperação para B, Cr, Ti e Mo em material vegetal ao empregarem um tamanho de partícula 17 vezes maior. Isso só foi possível através de um

acoplamento de um sistema de vaporização eletrotérmica à técnica de espectrometria de emissão com plasma.

Vien e Fry [124] discutiram o efeito do tamanho de partícula na recuperação de cobre para amostras de tecido de planta usando espectrometria de emissão DCP. Eles apresentaram que, para o transporte do aerossol através da câmara de nebulização de um DCP modificado, partículas maiores que 23 μm não eram conduzidas ao plasma. Em vez disso, elas eram difundidas no aerossol e removidas da câmara via dreno.

Ebdon e Collier [125] usaram uma variedade de nebulizadores e tochas com injetores de diferentes diâmetros para estudar os efeitos do tamanho de partícula na nebulização de suspensões de caolin. O uso de um tubo injetor de 3 mm de diâmetro interno permitiu a análise da suspensão de caolin com partículas de até 8 μm . As recuperações foram comparáveis àquelas obtidas com a solução equivalente. Eles ainda sugerem que, mesmo quando partículas maiores que 8 μm alcançam o plasma, elas são atomizadas apenas parcialmente ou passam pelo plasma sem sofrer atomização. Em um outro artigo [43], os mesmos autores mostraram os efeitos da geometria do nebulizador, tamanho de partícula, agentes dispersantes e viscosidade na nebulização da suspensão de caolin.

Os parâmetros fundamentais da nebulização de suspensões no ICP-AES foram estudadas por Goodall *et al* [102]. Ele introduziu o modelo do tamanho de diâmetro de ocupação (SOD, do inglês *size occupancy diameter*), o qual assume que o diâmetro máximo aceitável é aquele que permite a ocupação de cada gota do aerossol por uma partícula sólida. Para suspensões que apresentam recuperações comparáveis às das soluções, estabeleceu-se que a distribuição do tamanho de partícula não deveria exceder a 2,9 μm para um material de densidade 1 g.ml^{-1} ou 1,5 μm para um material de densidade 7 g.ml^{-1} .

Em um estudo elaborado do preparo de suspensões com detecção por ETAAS, Miller-Ihli [11] sugere que tamanhos pequenos de partículas ($>30 \mu\text{m}$) não são críticos para a precisão das análises de suspensões de materiais biológicos ou botânicos, os quais pode-se extrapolar para alimentos. Nesse trabalho, Miller-Ihli obteve a melhor precisão com partículas na faixa de 250-600 μm .

Os erros associados com o tamanho de partícula podem ser minimizados através da moagem da amostra original. O tempo de moagem depende do tamanho de partícula desejado, bem como da composição e quantidade de amostra [10,126].

1.6. Concentração da suspensão

A concentração é um fator importante a ser considerado durante o preparo da suspensão. As suspensões podem ser diluídas, mas somente dentro de uma faixa limitada, pois podem ocorrer perdas em precisão quando se empregam suspensões diluídas. Isso deve-se a um menor número de partículas que permanecem distribuídas no volume total após a diluição [16,126,127].

Outro fator que deve ser considerado é o risco de haver maior efeito de matriz quando se trabalha com altas concentrações da suspensão [76].

Williams *et al.* [128] prepararam suspensões de compostos refratários para a nebulização em um instrumento de ICP-MS. A princípio, eles obtiveram suspensões de 1g/100ml, mas após 30 min de nebulização, verificaram que ocorria um bloqueio parcial do cone de amostragem devido à deposição das partículas. Assim, a suspensão foi diluída, no mínimo em 20 vezes, para que não ocorresse tal problema.

Lynch e Littlejohn [89] estabeleceram a melhor faixa de concentração da suspensão para a análise de alimentos por ETAAS. Concentrações acima de 5 % (m/v) resultaram em uma deposição ineficiente da alíquota da suspensão; todavia, estes autores [100] obtiveram recuperações quantitativas para algumas suspensões em concentrações de até 10 % (m/v).

1.7. Curva analítica

Com o emprego da técnica de amostragem de suspensão, a concentração do analito pode ser determinada da mesma forma que na análise direta de sólidos, ou seja, com o emprego de material de referência certificado ou pela técnica da adição de padrão [52,53]. Entretanto, ao contrário da amostragem direta de sólidos, na análise de suspensão é possível, na maioria dos casos, o uso de soluções analíticas de referência para a obtenção de curva de calibração e posterior obtenção da concentração do analito na suspensão. Algumas vezes, faz-se necessário o uso de modificadores químicos no sentido de ajustar os sinais de absorção produzidos pelo analito, seja na solução aquosa ou na suspensão [129]. Recomenda-se que se utilize um material de referência certificado que tenha a mesma natureza da amostra e o teor certificado do analito desejado, desde que exista ou se disponha de tal material. Mas, infelizmente, a seleção e a disponibilidade desses materiais são limitadas [52]. Quando isso ocorre, ainda há outra alternativa que consiste em se produzir um padrão sintético a partir dos constituintes puros pesados cuidadosamente e, em seguida, combinados na forma desejada [3].

Para sistemas baseados em nebulizadores, a variação da resposta do sinal com a matriz e o tamanho da partícula, deve-se empregar soluções analíticas de

referência com características mais semelhantes possíveis [52,126]. Contudo, é viável o uso de soluções analíticas de referência na atomização eletrotérmica, onde já foi provado que se pode obter resultados aceitáveis [106], principalmente, depois da implementação de corretores de absorção de fundo do tipo Zeeman [84] e Smith-Hieftje [130], porque os mesmos permitem uma correção eficiente para altas absorbâncias de fundo, decorrentes da atomização da matriz. Também, recomenda-se o uso das condições STPF [131], com o objetivo de eliminar interferências espectrais e químicas [105].

1.8. Modificadores Químicos

O uso de modificadores químicos foi proposto originalmente por Ediger [132] em 1975. Estes possuem a finalidade de diminuir a produção de compostos térmicos dos íons interferentes e/ou dificultar a volatilização do analito. A interação do modificador químico com a suspensão assemelha-se com a da solução analítica de referência e é muito maior do que na amostragem direta de sólidos [16].

Um problema associado com a atomização de suspensões de material biológico é a formação de resíduo carbonáceo no interior do tubo, podendo, em alguns casos, bloquear o feixe de radiação. Isso pode ser evitado ao se usar uma etapa de pirólise assistida com ar/O₂ [21,130]. Outra forma de amenizar este inconveniente foi proposta por um grupo de pesquisadores espanhóis [28-31] e baseia-se no uso de um modificador químico oxidante que tem um efeito similar àquele exercido pelo O₂ na etapa de pirólise assistida.

Dentre os modificadores testados para chumbo, Hinds e colaboradores [19] propuseram o uso de paládio ou sua mescla com nitrato de magnésio.

Hinds e Jackson [129] usaram uma mistura de montmorilonita e ácido húmico para simular o comportamento de uma matriz de solo. A seguir, eles realizaram uma série de estudos com modificadores químicos. O melhor desempenho foi verificado com a mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Essa mistura foi responsável por um perfil de pico bem semelhante entre a solução analítica de referência e amostra.

Em outro trabalho, Hinds *et al.* [15] propuseram um programa rápido de temperatura, mas sem o uso de modificador.

Lynch e Littlejohn [89] empregaram paládio como modificador na determinação de chumbo em alimentos com a etapa de pirólise sendo realizada a 900°C . Também foi testado como modificador o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, mas este só conseguia estabilizar o chumbo até 750°C .

Xiao-quan *et al.* [50] observaram algumas vantagens em se usar dicromato de potássio em vez do nitrato de magnésio como modificador de matriz na determinação de alumínio em soro sanguíneo em termos de precisão e exatidão. A sensibilidade foi aumentada em duas vezes quando comparada com a ausência de modificador. Esse mesmo modificador também já foi empregado na determinação de mercúrio [133], selênio [133] e estanho [134].

Wagley *et al.* [135] usaram nitrato de magnésio como modificador químico na determinação de cromo em leite. As temperaturas de pirólise e atomização foram de 1600°C e 2400°C , respectivamente.

Bendicho e de Loos-Vollebregt [82] estudaram a influência de modificadores químicos como nitrato de magnésio, nitrato de paládio e a mistura de ambos na atomização de Co, Cu, Cr, Mn, Ni e Fe em vários materiais vítreos e concluíram que os modificadores não interferiam na recuperação desses elementos.

As aplicações dos modificadores químicos na análise direta de suspensões foram revisadas e discutidas em um trabalho clássico de Tsalev [136].

Só recentemente [137,138] foram empregados os modificadores químicos permanentes na análise de suspensões, embora tenham sido introduzidos na espectrometria de absorção atômica em 1973 por Kuzovlev *et al.* [139]. Em vez do modificador convencional ser depositado na forma de solução no interior do tubo de grafite de maneira idêntica à introdução da amostra, a modificação permanente consiste em um tratamento prévio do forno de grafite a partir da impregnação do modificador na superfície do atomizador, obedecendo um programa de aquecimento pré-definido [140].

De acordo com Slaveykova *et al.* [141], as maiores vantagens da aplicação de modificadores permanentes referem-se a simplicidade, rapidez durante as determinações por ETAAS, baixa contaminação e melhoria na determinação de metais formadores de hidretos. Outros autores ainda destacam o aumento do tempo de vida útil do tubo, melhor sensibilidade, precisão dos dados obtidos e estabilização do analito de interesse [142,143]. Porém, algumas limitações são observadas [141], tais como, surgimento de picos duplos devido a imperfeições no processo de recobrimento da plataforma e limitação na temperatura máxima de aquecimento, para evitar perdas do metal modificador.

Lima *et al.* [138] determinaram cádmio em suspensões de peixe, tendo como modificador permanente uma mistura de 250 µg de tungstênio e 200 µg de ródio. Os resultados mantiveram-se estáveis até 300 ciclos de aquecimento e o modificador permanente mostrou-se mais eficiente que a modificação convencional com paládio e nitrato de magnésio.

1.9. Precisão e Exatidão

Apesar de aceitáveis, os desvios padrão relativos obtidos, quando se emprega a técnica da amostragem de suspensões, são maiores do que aqueles quando soluções líquidas são empregadas [10,76].

Vários fatores podem afetar a precisão das medidas, como por exemplo, pequena quantidade de amostra sólida usada para preparar uma suspensão, e a capacidade de extração do analito no solvente [10]. De fato, a quantidade de amostra deve ser homogênea e representativa de todo o material. A distribuição dos tamanhos de partículas também afeta a precisão de forma que esta deva ser unimodal. Este fator depende de vários parâmetros, tais como, o tamanho de partícula e o intervalo de tempo entre o preparo da suspensão e sua análise [52].

Holcombe e Majidi [127] concluíram que os erros podem ser minimizados quando se trabalha com um tamanho de partícula diminuto, uma pequena faixa de distribuição destes tamanhos e grandes massas de material. Essa última é primordial quando se dispõe de amostras não homogêneas.

A exatidão da técnica de amostragem de suspensões pode ser verificada de diferentes maneiras, tais como, o uso de materiais padrão ou de referência certificado, testes de recuperação e o método da adição de padrão [10].

1.10. Aplicações

A Tabela 1 resume as aplicações da técnica de amostragem de suspensão na espectrometria de emissão e de absorção atômica. As referências bibliográficas são tabuladas em ordem ascendente. Esta tabela exhibe o tipo de amostra analisada, os elementos determinados, a técnica empregada e alguns comentários relevantes sobre o artigo relacionado.

Tabela 1. Aplicações da técnica de amostragem de suspensões em química analítica

Amostra	Elemento	Técnica	Estabilizante	Comentário	Ref.
Sedimento marinho	Zn	ETAAS	-	-	9
Material vegetal e fígado bovino	Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn	ETAAS	Triton X-100/ glicerol	homogeneização por efeito vortex e ultra-som	11
Carvão	Cu, Fe, Mn, Ni, V	ICP-AES	Triton X-100	tam. partícula >10 µm	12
Pigmentos a base de óxido de ferro	Cu, Mn, Cr, Zn	FI-FAAS	Triton X-100/ HMP	Uso de peneira de 325 mesh	13
Solos	Pb	ETAAS	-	Estudo de modificadores	15
Sedimento marinho	Pb	ETAAS	Triton X-100	tam. partícula >250 µm	16
Sedimentos, solos	As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb	ETAAS	-	tam. partícula <63 µm	17
Solos	Pb	ETAAS	-	tam. partícula <55 µm	19
Sedimentos	Pb, Cd, Cr, Cu, Co, Ni	ETAAS	Glicerol	Pd como modificador	20
Espinafre	Pb	ETAAS	Viscalex HV30	Estudos sobre interferência de matriz	21
Alimentos	Cd, Cu, Pb	ETAAS	Viscalex HV30	Estudo do tam. partícula	22
Alimentos	Pb	AAS	Triton X-100	Uso de geração de hidreto	24
Mamão	Pb	ETAAS	Triton X-100	Pré-calcinação da amostra	25
Farinha	Ca, Mg, Fe, Zn	FI-FAAS	Triton X-100/ HMP	tam. partícula <100 µm	26
Biscoito e pão	Cu	ETAAS	Etanol	Estudo do tamanho de partícula	27
Doces e goma de mascar	Cu, Pb, Zn Fe, Cr	ETAAS	Etanol	H ₂ O ₂ para auxiliar a decomposição	28
Cereais	Cd, Pb	ETAAS	Etanol	Fosfato como modificador	29
Feijão	Cd, Pb	ETAAS	Etanol	Fosfato como modificador	30
Goma de mascar	Al	ETAAS	Etanol	H ₂ O ₂ para auxiliar a decomposição	32

Suco de fruta	Al	ETAAS	-	Acoplamento de sistema FI	33
Suco de fruta	Se	ETAAS	-	Acoplamento de sistema FI	34
Leite	Al	ETAAS	-	Estudo da influência do material da embalagem	35
Peixes	Se	ETAAS	Triton X-100	Comparação dos resultados com a digestão ácida em forno de microondas	36
Alimentos	Zn, Fe	FI-FAAS	Triton X-100	Nebulizador Babington	37
Cerveja	As	ETAAS	-	Ni(NO ₃) ₂ + Ac. Ascórbico como modificador	38
Frutas em geral	Cd, Cu, Fe, Pb, Se	ETAAS	Triton X-100	Comparação dos resultados com a digestão ácida em forno de microondas	39
Derivados de leite	Cd, Pb	ETAAS	Triton X-100	tam. partícula < 25 µm	40
Carnes	Cu, Mn, Zn	FAAS	-	Uso de nebulizador do tipo Babington	41
Carvão	68 elementos	ICP-MS	Aerosol OT	Análise quantitativa e semi-quantitativa	42
Caolin	Al, Fe, Mg, Si, Ti	ICP-AES	Calgon, Dispex, NH ₃	Uso da otimização Simplex	43
Minérios refratários	Cu, Zn, Pb, Sn, Mo, As, Fe, Ag	ICP-AES	HMP	tam. partícula < 5 µm	44
Organismos marinhos	As	ETAAS	Triton X-100	Paládio como modificador	45
Nitreto de silício	Fe, J, Mg, Na, Zn	ETAAS	-	agitação ultra-sônica	47
Cabelo humano	Cd, Mn, Pb	ETAAS	Glicerol	Rápido programa de atomização	49
Soro sanguíneo humano	Al	ETAAS	Triton X-100	K ₂ Cr ₂ O ₇ como modificador	50
Folhas de tabaco	Pb, Cd, Ni, Co	ETAAS	-	Agitação ultra-sônica	51
Material Biológico	24 analitos	ICP-MS	Triton X-100	Nebulizador Babington	55
Alimentos	B, Cr, Ti, Mo	ICP-AES	PTFE	Uso de fluorinação	56

Chá e café	Al, Ba, Mg, Mn	ICP-AES	Triton X-100	Tam. partícula < 44 µm	57
Material botânico	B, Cr, Ti, Mo	ICP-AES	PTFE	Uso de fluorinação	58
Carbeto de silício	Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Ti	ICP-AES	-	Agitação ultra-sônica	59
Leite	Na, Ca, Mg, K	FAAS	Triton X-100	det. de K por AES	61
Leite e fígado Bovino	Th, Mn, Pb	ETAAS/ ETA-LE- AFS	Triton X-100	-	62
Farinha, fígado bovino	Mo	ETV-ICP- AES	PTFE	Uso de fluorinação	63
Material biológico	Al	ETV-ICP- AES	PTFE	Uso de fluorinação; material suspenso em 6 % PTFE	67
Carvão e lagosta	Co, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb	ETV-ICP- MS	Triton X-100	-	73
Sedimento	Cu, Cd, Pb	ETV-ICP- MS	Triton X-100	Uso de sonicação por 30 min. e efeito vortex para melhorar a estab. da suspensão	74
Óxidos de alumínio	Ca, Cr, Cu, Fe, Pb	ETAAS	-	tam. partícula < 20 µm	77
Solos	Pb, Cd	ETAAS	-	Agitação magnética	78
Sedimento de rio	As, Fe, Mn, Pb	ETAAS	Triton X-100	Agitação por efeito vortex	80
Solos	Pb	ETAAS	-	Agitação por efeito vortex	81
Material vítreo	Cu, Co, Cr, Fe, Mn, Ni	ETAAS	Glicerol	Extração dos metais com HF	82
Carvão	As, Pb, Tl	ETAAS	Triton X-100	Agitação ultra-sônica	84
Solos	Cd, Pb	ETAAS	-	tam. partícula < 11 µm	88
Alimentos	Pb	ETAAS	Antifoam B	Paládio como modificador	89
Carvão	Be	ETAAS	-	Mg(NO ₃) ₂ como modificador	90
Espinafre	Al, Cu, Cr, Fe, Mn	ETAAS	Triton X-100	Estudo do tamanho de partícula	92
Sedimentos, tec. vegetal e animal	Cd, Pb	ETAAS	Glicerol	Relata problemas devido à viscosidade do glicerol	93

Carvão	As	ETAAS	Viscalex HV30	Corretor Smith-Hieftje de absorção de fundo	95
Solos	Pb	ETAAS	-	Agitação magnética	96
Espinafre	Pb	ETAAS	-	15-300 µg de sólido em 5 µl de suspensão	97
Material vegetal	Ti	ETAAS	HMP	Pré-calcinação da amostra	99
Alimentos	Cd	ETAAS	Antifoam B	Paládio como modificador	100
Material vegetal	Al, Ca, Cd, Fe, Mg, Ti, Mn, P	ICP-AES	Aerosol OT	tam. partícula < 2 µm	102
Óleo lubrificante	Ag, Cr, Mg, Ni, Pb, Si, Sn, Fe, Al, Cu	ETAAS	-	Estudo do tamanho de partícula	104
Alimentos	16 elementos	ETAAS	Triton X-100	determ. multi-elementar	105
Farinhas	Zn, Mn, Mg, Cu, Ca, Fe, K	FAAS	-	amostragem da suspensão carbonácea	107
Peixes	Al	ETAAS	-	Solubilização da suspensão em forno de microondas	117
Peixes	Se	ETAAS	-	Solubilização da suspensão em forno de microondas	118
Peixes	Pb	ETAAS	Triton X-100	Solubilização da suspensão em forno de microondas	119
Minérios e rochas	Co, Cr, Cu, V	FAAS/ ETAAS/ ICP-AES	Vários	Comparação entre FAAS, ETAAS e ICP-AES	123
Vegetais	Cu	ICP-AES	Triton X-100	Estudo do tamanho de partícula	124
Solos	Pb	ETAAS	-	tam. partícula < 20 µm	129
Carvão	Se	ETAAS	Etanol	Corretor Smith-Hieftje de absorção de fundo	130

Percebe-se, com uma certa facilidade, a ampla faixa de aplicações na qual a amostragem de suspensão é utilizada, mostrando que diversos tipos de amostras podem ser analisadas, como, por exemplo, ambientais, geológicas,

biológicas, industriais e gêneros alimentícios. Comparada com outras técnicas para a análise de suspensões, a ETAAS oferece ao analista uma combinação ímpar de excelentes sensibilidade e simplicidade a um custo moderado.

A popularidade da técnica de amostragem de suspensões, como uma alternativa vantajosa na determinação de elementos nos mais diversos tipos de amostras, é refletida no número anual de publicações desde 1974 até 1991 [76]. Essa revisão atualizou os dados até o presente ano de 2000, conforme pode ser observado na Figura 1.

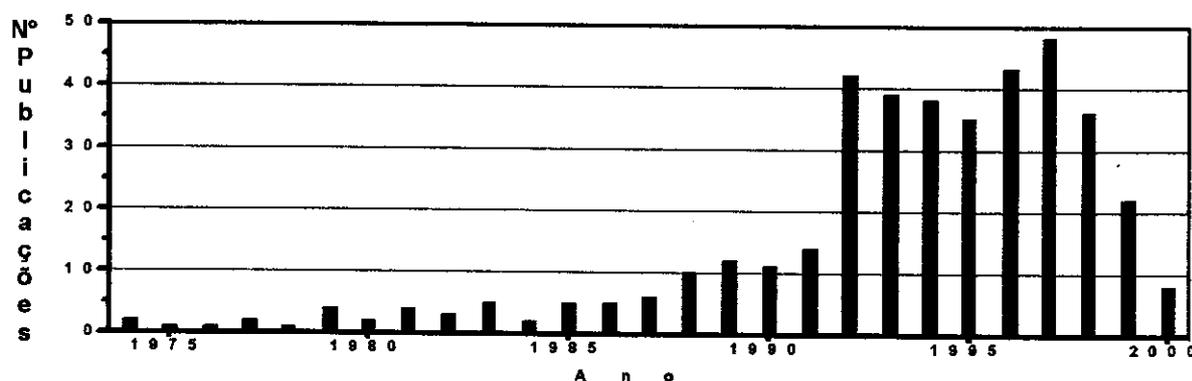


Figura 1. Número de trabalhos publicados por ano no período de 1974 até março de 2000

2. Alumínio: ocorrência, importância e técnicas empregadas

2.1. Ocorrência e importância

O conhecimento do papel de elementos químicos no meio ambiente tem crescido nos últimos anos. Alumínio é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre. Este metal é encontrado na natureza predominantemente sob a forma de silicatos, fosfatos e óxidos como constituinte dos mais diversos tipos de solos, tais como, areias, sedimentos e argilas [144].

As formas em que o alumínio ocorre naturalmente são relativamente insolúveis e não reativas. Devido a essas propriedades, o alumínio tem sido excluído dos processos metabólicos e bioquímicos. Entretanto, sob algumas condições ambientais, tais como altos níveis de matéria orgânica do solo ou

aumento da acidez devido à chuva ácida por exemplo, parte deste alumínio pode ser lixiviado e torna-se tóxico para as plantas [145]. O alumínio não é essencial para os seres vivos, sendo que a intoxicação por este metal parece estar relacionada com uma variedade de distúrbios neurológicos e comportamentais [146,147], como por exemplo, o mal de Alzheimer, demência pré-senil, esclerose amiotrófica lateral e mal de Parkinson [147]. Estima-se que a ingestão diária de alumínio proveniente da alimentação humana seja de 2-6 mg para crianças e de 9-14 mg para adultos [148].

Atualmente, o grande interesse na determinação de alumínio em materiais geológicos, tais como, solos e sedimentos deve-se ao fato de que esse metal vem sendo empregado como um parâmetro de normalização, no sentido de determinar os níveis basais para alguns elementos-traços [149-153]. Por outro lado, a importância de se determinar alumínio em gêneros alimentícios é atribuída à larga faixa de concentração de alumínio que é encontrado nesse tipo de amostra [154]. As fontes mais ricas em alumínio são tomate, maçã, farinha de arroz, leite e seus derivados [147].

Alimentos como chá e café também acumulam naturalmente altos níveis de alumínio (até cerca de $450 \mu\text{g g}^{-1}$) [147]. Com base nessa afirmativa, tem-se sugerido que o consumo de tais bebidas contribui largamente na ingestão diária de alumínio por um ser humano [155]. Nesse contexto, é interessante comentar o relato de Koch *et al.* [155], que observaram um aumento significativo da concentração de alumínio na urina em seres humanos voluntários consumidores de quantidades relativamente altas de chá por dia. Além disso, os níveis de alumínio nessas bebidas podem ainda ser aumentados decorrente da contaminação durante o processamento, embalagem e do uso de aditivos

permitidos, tais como, fosfatos de alumínio, aluminossilicatos e corantes à base de alumínio [148].

2.2. Técnicas de Análise

As técnicas de análise empregadas para a determinação de alumínio são inúmeras. Entretanto, dentro do contexto desta Tese de Doutorado, deu-se um enfoque às técnicas de emissão e de absorção atômica, destacando, inclusive, a combinação com a amostragem de suspensões.

2.2.1. *Materiais geológicos*

A espectrometria de emissão clássica – a espectrografia – pode ser considerada como predecessora das modernas técnicas que utilizam ICP e DCP como fontes de excitação [156]. Os espectrógrafos de rede plana são instrumentos que apresentam uma óptica robusta e de uso comum em espectroscopia analítica, e são utilizados desde antes dos anos cinquenta [157]. O princípio básico deste instrumento consiste no registro da intensidade de emissão atômica juntamente com uma escala de comprimento de onda sobre um filme fotográfico. Os elementos são atomizados e excitados por meio de um arco elétrico ou centelha, que permite a análise qualitativa ou quantitativa diretamente em uma amostra sólida, como exemplo, ligas metálicas e material geológico. A intensidade de luz emitida por estes elementos em um comprimento de onda característico, é utilizada para determinar a concentração desses elementos na amostra.

A espectrografia possui como principais características o baixo custo e o fato de possibilitar uma análise multi-elementar [156]. Filmes fotográficos são utilizados para registrar o espectro de emissão. Apesar destes filmes serem especialmente desenvolvidos e apresentarem uma boa resolução [158], seu uso

em laboratório de rotina é sempre incômodo e demanda longos períodos, além de exigir um especialista bem treinado.

Embora a espectrografia muitas vezes seja considerada uma técnica obsoleta e ultrapassada, Bellato e Pasquini [159] conseguiram mostrar que, ainda nos dias atuais, nas situações em que a falta de sensibilidade possa ser tolerada, esta técnica pode ser bastante útil, devido à possibilidade de automação do instrumento, do acoplamento de sistemas injeção em fluxo e da substituição do velho sistema de detecção baseado no filme fotográfico por um outro tipo de detector mais moderno, como é o caso do arranjo linear de fotodiodos [160].

O alumínio, por ser um elemento com propriedades refratárias, faz da espectrometria de emissão um atrativo a parte como técnica empregada para sua determinação, principalmente em amostras de difícil dissolução, quando, nesse caso particular, a combinação com a amostragem de suspensões surge como uma alternativa bastante razoável.

Alguns relatos são descritos na literatura com respeito à determinação de alumínio em materiais geológicos por meio de técnicas espectrométricas de emissão envolvendo amostragem de suspensões.

Williams *et al.* [128] determinaram onze elementos em suspensões de solos com valores certificados de referência por ICP-MS. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos por ICP-AES e por procedimentos convencionais de decomposição de amostra. Para a maioria dos elementos, não houve diferença significativa entre os resultados, com exceção do alumínio que conferiu um valor cerca de 10 % abaixo do esperado, o qual sugere que os óxidos refratários de alumínio são capazes de suportar as condições drásticas de temperatura no plasma [161].

Vários autores [18,128,162-165] encontraram baixas recuperações para alumínio quando empregaram a nebulização de suspensões em plasmas, o que confirma algumas limitações desta metodologia em decorrência do tamanho de partícula, que deve ser maior do que 10 μm [125,163,165,166], restringindo a aplicação da amostragem de suspensões em plasmas [165].

Ambrose *et al.* [167] descreveram o acoplamento de um sistema FIA a um instrumento de ICP-AES para a análise de suspensões de solos com uma câmara de nebulização de pequeno volume. Eles demonstraram que a injeção em fluxo é aplicável às suspensões exatamente como às soluções, oferecendo muitas vantagens, inclusive a viabilidade de se obter suspensões relativamente concentradas no plasma.

2.2.2. Gêneros alimentícios

Várias técnicas já foram empregadas para a determinação de alumínio em alimentos e bebidas, incluindo-se a análise por ativação neutrônica [168], cromatografia [169], espectrofotometria de absorção molecular [170], espectrometria de emissão [57,154,171] e de absorção atômica [31-33,35,57,117,154,172-179].

Dentre as variações da espectrometria de absorção atômica, os melhores resultados foram obtidos usando-se a atomização eletrotérmica (ETAAS) devido à combinação de sensibilidade, simplicidade e o custo moderado desta técnica [76]. O surgimento de acessórios, como o agitador ultra-sônico, tornaram a ETAAS uma técnica empregada na análise de suspensões [105]. Além das vantagens oferecidas pela espectrometria de absorção atômica, a combinação com a amostragem de suspensões para a determinação de alumínio [31] torna-se um atrativo a parte, pois, nos métodos usuais de decomposição da amostra [2], a

mineralização da amostra sólida geralmente requer o uso de reagentes de alta pureza e procedimentos arriscados que podem levar horas ou até mesmo dias [57]. Somando-se a essas desvantagens, é sempre iminente o risco de perdas do analito por volatilização ou por adsorção nas paredes do frasco de digestão [10]. Por outro lado, com a técnica de amostragem de suspensões, minimiza-se o uso de ferramentas e equipamentos especiais [11,76]; as amostras podem ser preparadas usando-se apenas massas da ordem de miligramas, sendo ainda possível realizar diluições, caso seja necessário [11,76].

Muitos artigos descrevem métodos para a determinação de alumínio utilizando ETAAS, e com respeito a alimentos em geral, convém destacar alguns trabalhos sobre o assunto.

Vinãs *et al.* [31] analisaram suspensões de vegetais por ETAAS para a determinação de alumínio e cromo utilizando os chamados programas rápidos de aquecimento (secagem da amostra a 200°C durante 20 s, atomizando logo em seguida a 2500°C). Para evitar a formação de resíduo carbonáceo indesejável no interior do tubo de grafite, visto que, em alguns casos, este resíduo pode bloquear a passagem do feixe de luz, eles utilizaram peróxido de hidrogênio como modificador químico oxidante, obtendo, assim, um efeito similar àquele exercido pelo O₂ na etapa de pirólise assistida [21,130]. A precisão do método para o alumínio foi aproximadamente de 5%. Os resultados obtidos com a amostragem de suspensões e com a dissolução das amostras não apresentaram diferenças significativas e a exatidão do método foi comprovada empregando-se dois materiais certificados de referência.

Arruda *et al.* [35] determinaram alumínio a partir da análise direta do leite, bastando apenas a diluição da amostra em ácido nítrico 0,2 % (v/v) antes de sua introdução no tubo de grafite. Nitrato de magnésio foi empregado como

modificador químico. A precisão também foi de aproximadamente 5 % e os testes de recuperação giraram em torno dos 100%. Este método foi aplicado com sucesso em *milk-shakes* e em vários tipos de leite, entre eles, o desnatado, semi-desnatado e integral.

Desta forma, dois métodos distintos são propostos para a determinação de alumínio, explorando as potencialidades de técnica espectroscópica, da análise por injeção em fluxo e da amostragem de suspensões:

- *Análise de suspensão de amostras por espectrografia usando sistema de injeção em fluxo monossegmentado: determinação de alumínio em sedimentos;*
- *Análise direta de chá e café para a determinação de alumínio por ETAAS em forno de grafite*

3. Análise de suspensão de amostras por espectrografia usando sistema de injeção em fluxo monossegmentado: determinação de alumínio em sedimentos.

Neste trabalho, propõe-se uma aplicação pioneira da técnica de amostragem de suspensões para determinação de alumínio em sedimentos empregando um sistema monossegmentado de injeção em fluxo, acoplado a um espectrógrafo de rede plana.

3.1. Material e Método

3.1.1. Instrumentação, materiais, reagentes e amostras

A quantificação do analito foi obtida por meio de um espectrógrafo Zeiss PGS-2 com uma rede de difração de $641 \text{ linhas.mm}^{-1}$ e um caminho óptico de

2,075 m, proporciona uma dispersão da luz emitida em sua fenda de entrada (100 nm) em uma imagem de 24 cm em sua fenda de saída, a qual apresenta uma faixa de 174 nm do espectro de emissão. Este espectrógrafo foi automatizado previamente por Bellato *et al.* [160] ao substituírem o sistema de detecção com filme fotográfico por um arranjo linear de fotodiodos, marca EGG-Reticon, modelo 1024S. As principais funções do instrumento foram controladas por uma interface conectada a um microcomputador. A fonte de excitação era fornecida por um módulo de força, disponíveis na forma de arco elétrico ou centelha, com corrente contínua ou alternada. As condições de excitação foram ajustadas para o modo de centelha de corrente contínua (500 μ H, 25 μ F e 6 Ω).

Espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido de argônio Perkin-Elmer modelo Optima 3000 DV, operando nas seguintes condições:

- potência da fonte de radiofrequência 1300 W;
- gases: Argônio (15 l min^{-1} ; 0,8 l min^{-1} e 0,5 l min^{-1} , para principal, nebulização e auxiliar, respectivamente), ar comprimido como “*shear gas*” e nitrogênio como gás de purga;
- posição da tocha: axial.

Forno de microondas para altas pressões (650 psi) marca QCI, modelo Qwave 3000 com capacidade para 10 frascos de Teflon[®] de 100 ml.

Banho ultra-sônico Cole-Parmer, modelo 8890.

Bomba peristáltica Ismatec IPC e tubos de transmissão de polietileno com 0,8 mm d. i. para transportar água e ar. Tubos de Tygon foram empregados para impulsionar os fluidos.

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico.

Ácido nítrico suprapuro da Merck (Darmstadt, Alemanha).

A água destilada e desionizada de alta pureza purificada por um sistema Milli-Q (Millipore).

Para construção da curva de calibração do método, foram preparadas soluções analíticas de referência de alumínio (0, 15, 30, 45 e 60 mg l⁻¹) em balões volumétricos de 50 ml a partir de diluições seriais de uma solução estoque 1000 mg l⁻¹ Titrisol Merck (Darmstadt, Alemanha) em alumínio. Cada solução foi preparada em meio HNO₃ 2 % v/v e La 588 mg l⁻¹ como padrão interno.

A solução estoque do padrão interno foi preparado a partir da dissolução de 11,7 g de óxido de lantânio (III) (F. Maia, S. Paulo, Brasil) em 10 ml de ácido clorídrico concentrado. Após a dissolução, o volume foi completado para 100 ml com água.

As análises das mesmas amostras foram feitas por ICP-AES com a finalidade de comparação entre métodos. Soluções analíticas de referência de alumínio (0, 100, 200, 500 e 800 mg l⁻¹) foram obtidas a partir de diluições seriais de uma solução estoque 10000 mg l⁻¹ em alumínio (Merck). O mesmo meio HNO₃ 2 % v/v foi mantido, mas omitiu-se a adição de lantânio.

Ácido bórico (Merck) foi empregado para remover o fluoreto durante a decomposição da amostra por via úmida.

Amostras de sedimento (certificadas ou de referência): Estuarine Sediment 1646a (NIST), Lake Sediment SL-1 (IAEA) e Humber River Sediment HR-1 (NIST), além de amostras de sedimentos coletadas em diferentes regiões do Brasil.

Todas as soluções e suspensões foram preparadas e armazenadas em frascos de polipropileno. Os frascos plásticos, vidrarias e demais utensílios de laboratório foram descontaminados através de imersão em ácido nítrico 20 % v/v

por 24 horas. Depois, o material foi lavado 5 vezes com água Milli-Q e, em seguida, seco à temperatura ambiente.

3.1.2. Sistema de fluxo monossegmentado acoplado ao espectrógrafo

O sistema de fluxo foi semelhante ao proposto por Bellato & Pasquini [159] (Figura 2), sendo que, utilizou-se um tubo de Teflon[®] com 13 cm de comprimento por 2 mm d.i. para carregar a amostra até o topo do eletrodo capilar e um tubo capilar de vidro também com 2 mm d.i. no interior do eletrodo. Estas modificações fizeram-se necessárias para garantir o transporte da suspensão sem o risco de entupimento.

Este sistema de fluxo foi acoplado ao espectrógrafo automatizado para agilizar o processo de introdução de amostras na forma de suspensão. Na Figura 3, pode-se observar a montagem dos eletrodos e o tubo que transportava a suspensão para ser atomizada.

Neste sistema de fluxo (Figura 2), quando o injetor era movimentado para a posição de injeção, 25 μl de amostra eram transportados, na forma de um monossegmento [180], a uma vazão de 2,4 ml min^{-1} em direção à fonte de excitação. A suspensão encerrada no monossegmento continha, em sua posição anterior, uma bolha de ar de 450 μl e, na posição posterior, somente o ar que preenchia o tubo de Teflon[®] até o eletrodo. O computador identificava esta operação através da mudança de estado lógico causada pela chave óptica de transmissão e iniciava a contagem de tempo pré-programado pelo analista durante a qual a amostra era transportada para o eletrodo (20 s para uma vazão carregadora de 2,4 ml min^{-1}). Antes de atingir a saída do eletrodo, a fonte de excitação era acionada para se obter um tempo de pré-aquecimento de 5 s. O intervalo de tempo de pré-aquecimento é fundamental para favorecer a

volatilização da amostra ao chegar no eletrodo. Após o tempo de pré-aquecimento concluído, o detector passava a integrar, durante 15 s, a luz emitida pela amostra que atinge os eletrodos. A janela espectral monitorada (janela 12, cuja faixa é 386,61-405,31 nm) era apresentada na tela do microcomputador e armazenada em disco rígido para posterior tratamento dos dados. O sistema passava, então, a bombear água para limpeza durante 20 s com o injetor na posição de introdução de amostra. A seguir, o injetor era retornado manualmente para a posição de amostragem e aguardava-se alguns segundos enquanto o restante da água era escoada a uma vazão de $2,4 \text{ ml min}^{-1}$. Após o término da passagem de água pelo eletrodo, a fonte de excitação era acionada por 5 s para eliminar o efeito de memória e promover sua secagem. Neste instante, o sistema estava pronto para um novo ciclo.

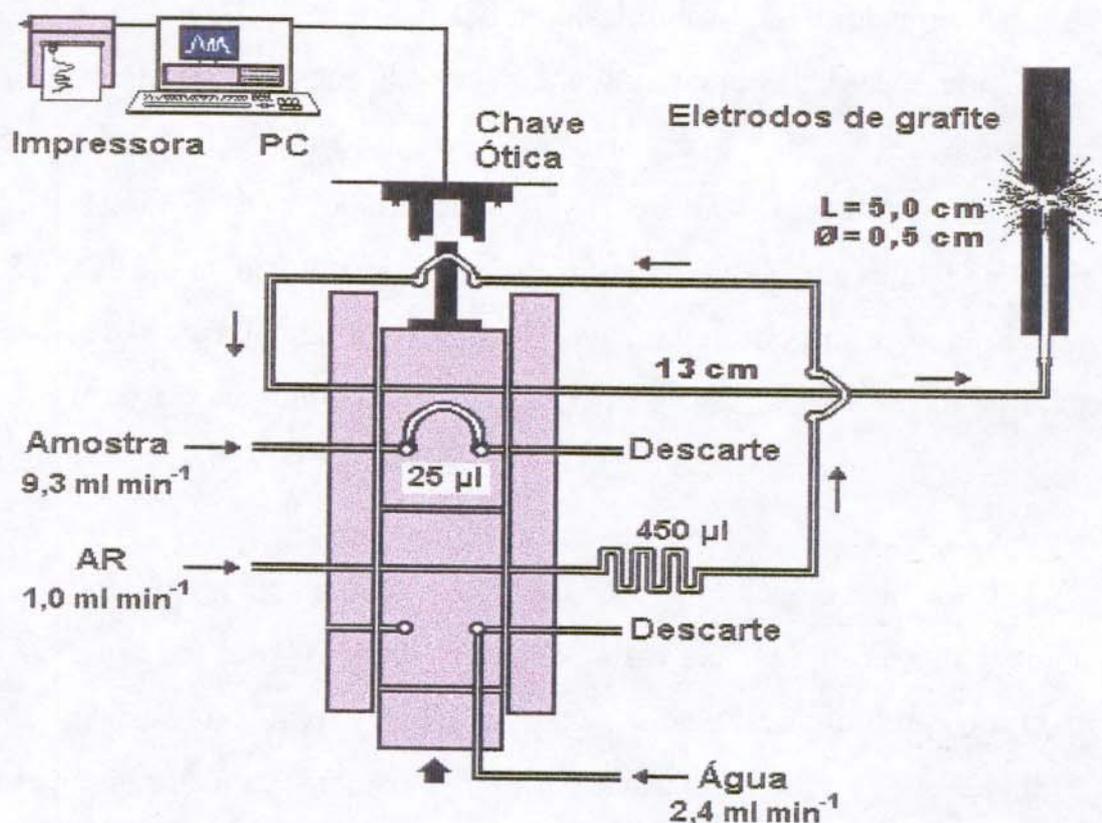


Figura 2. Esquema do sistema de fluxo para introdução de suspensões de sedimentos na fonte de excitação do espectrógrafo.

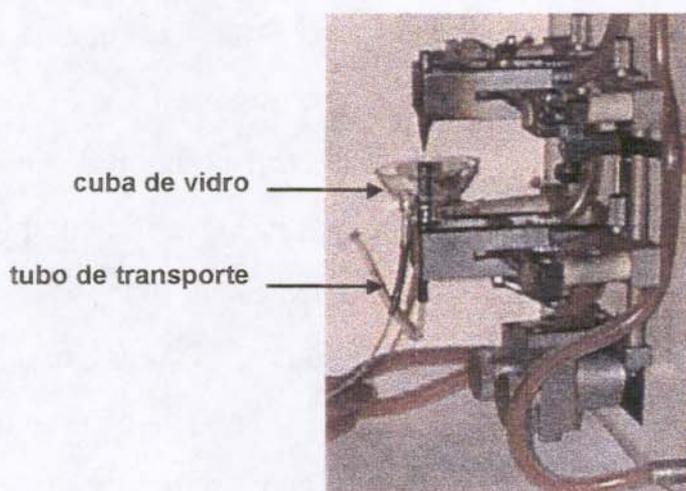


Figura 3. Fonte de excitação do espectrógrafo. A amostra é transportada através do tubo conectado abaixo do eletrodo inferior. A cuba de vidro que circunda o eletrodo tem por finalidade coletar o excesso de amostra e drená-lo para o descarte.

3.1.3. Preparo e análise das suspensões

As amostras foram moídas com o auxílio de pistilo e almofariz de ágata por 15 min e passadas por uma peneira de 400 mesh ($< 38 \mu\text{m}$). As amostras foram pesadas (8,5-50 mg) e transferidas para um balão volumétrico de 50 ml. A seguir, adicionou-se 1,0 ml de HNO_3 concentrado ($\sim 63\% \text{ m/m}$) e 294 μl da solução de lantânio. O volume foi completado com água Milli-Q. Agitou-se manualmente a suspensão durante 1 min e, em seguida, transferiu-se para o banho de ultra-som por 10 min para melhorar a homogeneização das partículas sólidas na suspensão. Nessa condição, as amostras estavam prontas para a análise.

Cabe mencionar aqui que não foi possível se trabalhar com agentes estabilizantes, neste caso em particular, com Triton X-100, visto que observou-se em ensaios preliminares, a aderência de parte dos sólidos da suspensão ao longo das paredes dos tubos de transmissão do sistema monossegmentado – fato atribuído provavelmente ao efeito de aumento da viscosidade da suspensão em decorrência da adição deste agente.

3.1.4. Preparo e análise das amostras solubilizadas

Com o propósito de comparação, as amostras também foram analisadas como descrito a seguir. A análise de cada amostra foi realizada por duplicata. As amostras de sedimento com massas da ordem de 250 mg foram quantitativamente pesadas e transferidas para bombas de Teflon[®] juntamente com 7 ml de água régia mais 3 ml HF concentrado. As bombas foram seladas e colocadas no interior de um forno de microondas para altas pressões e submetidas a um programa de aquecimento para digestão das amostras (Tabela 2). O monitoramento da potência e da temperatura é ilustrado na Figura 4. Após 35 min de aquecimento no interior do forno de microondas, as bombas foram resfriadas em temperatura ambiente e, em seguida, abertas. A cada bomba, adicionou-se a medida de uma espátula de H₃BO₃ sob aquecimento moderado (~110°C) em chapa aquecedora para eliminar o flúor na forma de BF₃ volátil, que poderia danificar a tocha do instrumento ICP-AES. As amostras foram evaporadas até quase secura para logo após serem resfriadas em temperatura ambiente. O conteúdo das bombas foram, então, transferidos quantitativamente em presença de meio nítrico 2 % v/v para balões volumétricos de 50 ml. Os brancos de reagentes foram submetidos às mesmas condições experimentais das amostras digeridas com o intuito de minimizar possíveis erros oriundos da contaminação dos reagentes empregados. O alumínio foi então determinado por ICP-AES. A curva analítica de calibração ($y=129600,5+11042,54 x$; $r = 0,9996$) foi obtida a partir de soluções analíticas de referência de alumínio na faixa de concentração de 100 a 800 mg l⁻¹, preparadas conforme descrito no item 3.1.1.

Tabela 2. Programa de aquecimento do forno de microondas para a decomposição das amostras de sedimento

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)	Temperatura limite (°C)	Pressão limite(psi)
1	200	3:00	190	350
2	400	5:00	190	350
3	600	5:00	190	350
4	700	20:00	190	350
5	80	2:00	190	350

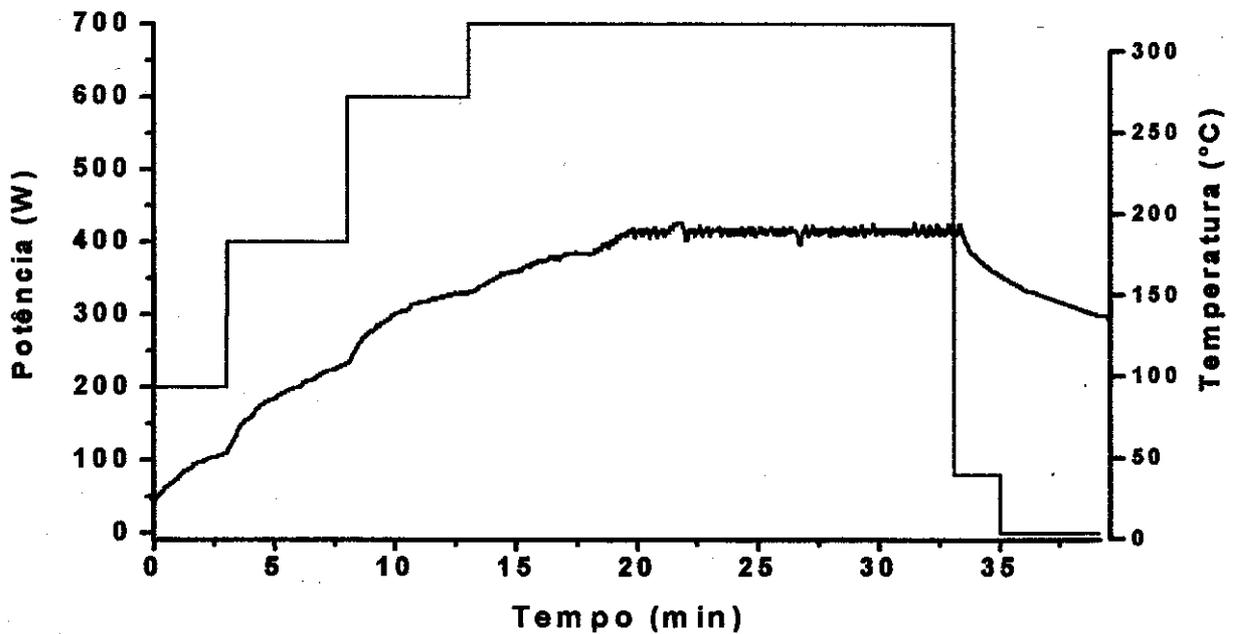


Figura 4. Monitoramento da potência e temperatura durante a decomposição das amostras em forno de microondas

3.2. Resultados e Discussão

Todos os estudos que envolveram suspensões foram conduzidos com amostra certificada de referência HR-1 Humber River Sediment. As suspensões de sedimento foram preparadas conforme descrito no item 3.1.3.

As condições operacionais do espectrógrafo foram ajustadas idênticas àquelas sugeridas por Bellato & Pasquini [159], os quais introduziram um sistema monossegmentado de injeção em fluxo [180] acoplado ao mesmo espectrógrafo para a determinação de alumínio em amostras líquidas.

3.2.1. *Uso do método do padrão interno*

Devido à instabilidade da fonte de excitação baseada em arco/centelha e ao desgaste dos eletrodos, que leva a um aumento da distância entre ambos, a análise só pode ser realizada, muitas vezes, mediante o uso de uma linha de emissão de um padrão interno para compensar, tanto esses efeitos [181], como ainda vários outros tipos de erros aleatórios ou sistemáticos [165,182].

Na calibração pelo método do padrão interno, uma concentração conhecida de uma espécie é adicionada a todas as amostras, soluções analíticas de referência e brancos. Os sinais analíticos do analito e do padrão interno são registrados simultaneamente numa mesma janela espectral. A curva de calibração é obtida a partir da razão entre o sinal do analito e do padrão interno *versus* concentração do analito nas soluções de referência [182].

A janela espectral monitorada (386,61-405,31 nm), exibiu 2 picos de Al e 5 de La, resultando em 10 pares possíveis, como mostra a Figura 5. Nesse sentido, o primeiro estudo para a otimização do método, consistiu na escolha de qual par Al/La seria empregado como razão dos sinais analítico para, efetivamente, quantificar o alumínio nas amostras de sedimento. Para esse

propósito, três suspensões do material certificado HR-1 Humber River Sediment foram preparadas contendo, respectivamente, $0,25 \text{ mg ml}^{-1}$, $0,50 \text{ mg ml}^{-1}$ e $1,00 \text{ mg ml}^{-1}$ de material sólido em suspensão, conforme procedimento descrito no item 3.1.3. O critério de escolha do par Al/La foi o desvio padrão relativo. Obteve-se o espectro de emissão em quintuplicata para cada uma das suspensões acima. A variação do desvio padrão relativo em função do par Al/La é mostrado na Figura 6. Como se pode observar, há uma tendência de um maior desvio quanto mais distantes forem os picos de Al e La que constituem o par, como, por exemplo, os pares Al1/La5 e Al2/La5. Entretanto, um par revelou desvios aceitáveis (4,6 – 8,6 %) para as três concentrações de suspensão estudadas. Assim, as linhas de emissão 394,4 nm (Al1) e 394,9 nm (La1) para alumínio e lantânio, respectivamente, foram escolhidas para constituírem o par que fornecesse a razão dos dois sinais analíticos. Todas as medidas foram feitas em área de pico, pois as medidas em altura de pico não foram reprodutíveis.

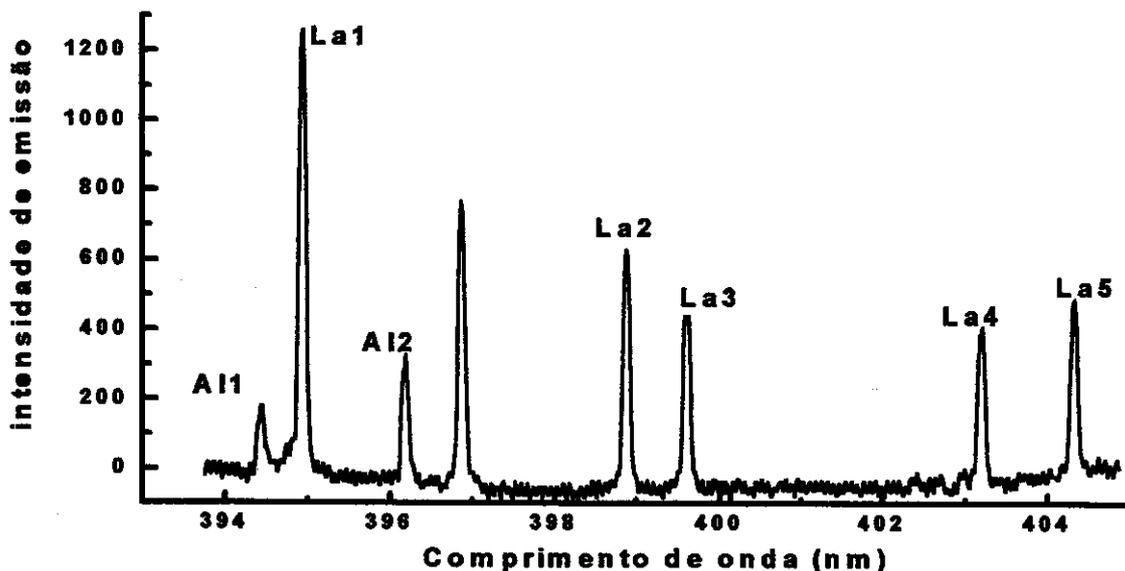


Figura 5. Espectro de emissão obtido a partir de $25 \mu\text{l}$ de uma suspensão de HR-1 Humber River Sediment $0,25 \text{ mg ml}^{-1}$ mostrando as linhas características de alta intensidade para alumínio e lantânio dentro da janela espectral. Linhas do alumínio em 394,4 nm e 396,2 nm; linhas do lantânio em 394,9 nm, 398,9 nm, 399,6 nm, 403,2 nm e 404,3 nm.

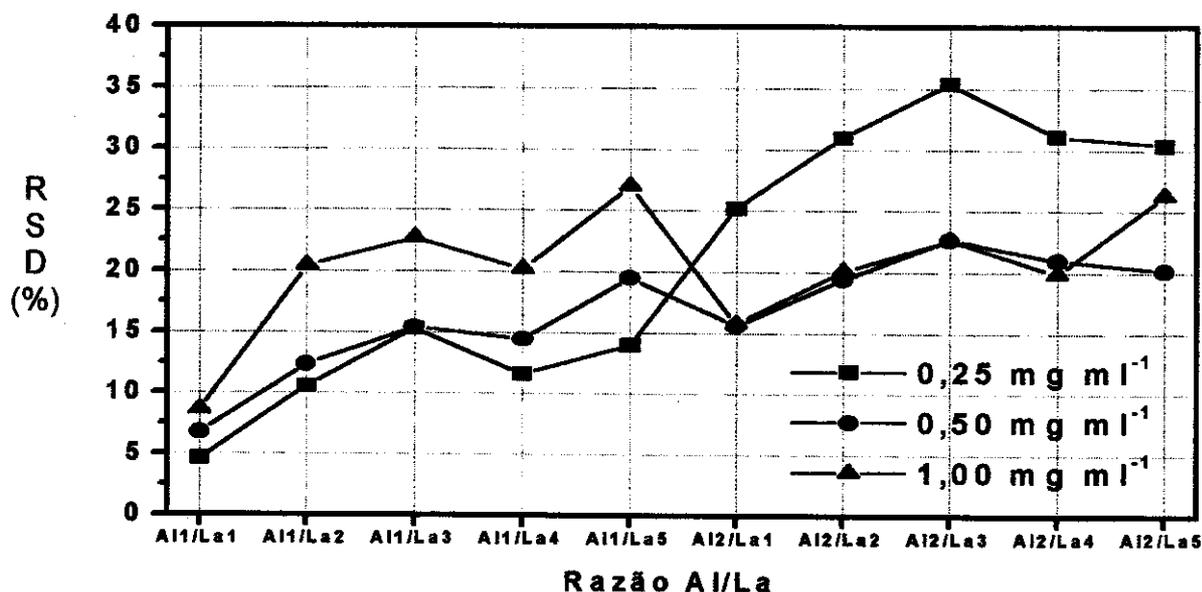


Figura 6. Desvio padrão relativo (RSD) em função da razão dos sinais analíticos de alumínio e lantânio (Al/La) para 25 μ l de suspensões de HR-1 Humber River Sediment nas seguintes concentrações de sólidos suspensos: 0,25 mg ml⁻¹, 0,50 mg ml⁻¹ e 1,00 mg ml⁻¹.

3.2.2. Volume introduzido de amostra

O volume introduzido das suspensões foi variado de 15 à 50 μ l. Novamente trabalhou-se com três diferentes concentrações da suspensão do sedimento HR-1: 0,25 mg ml⁻¹, 0,50 mg ml⁻¹ e 1,00 mg ml⁻¹. De acordo com a Figura 7, nota-se que o sinal relativo para o alumínio ($Al_{394,4nm}/La_{394,9nm}$) cresceu em função do aumento do volume injetado de amostra. Além disso, parece que a monossegmentação melhora a homogeneização da amostra por causa do seu padrão de fluxo turbulento. Embora com uma alça de amostragem 50 μ l tenham se obtido os sinais relativos mais elevados, os desvios padrão das medidas variaram de 25,9 a 47,4 %, sendo, portanto, inaplicáveis. Estes resultados ocorreram, provavelmente, pela elevada taxa de sedimentação deste tipo de amostra, a qual é intensificada pela maior quantidade de material sólido confinada no monossegmento da suspensão. Com base nesse resultado, adotou-

se trabalhar com uma alça de amostragem de 25 μl tanto para as amostras como para as soluções analíticas de referência.

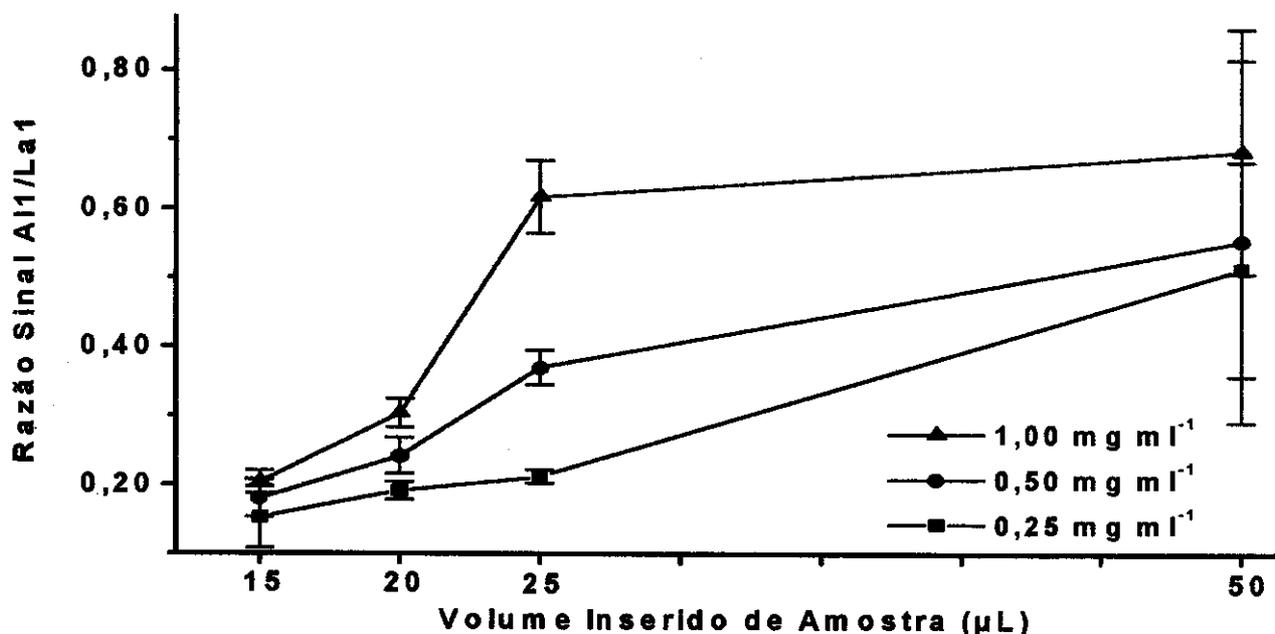


Figura 7. Efeito do volume de amostra em função do sinal relativo de alumínio em suspensões de HR-1 Humber River Sediment nas seguintes concentrações de sólidos suspensos: 0,25 mg ml^{-1} , 0,50 mg ml^{-1} e 1,00 mg ml^{-1} .

3.2.3. Estudo da vazão

Tomou-se como ponto de partida vazões próximas àquelas empregadas nos tubos de bombeamento no trabalho proposto por Bellato & Pasquini [159]. Entretanto, verificou-se que, o sinal relativo $\text{Al}_{394,4\text{nm}}/\text{La}_{394,9\text{nm}}$ não sofreu variação quando se aumentou a vazão do fluido carregador (água) até 2,4 ml min^{-1} para 25 μl de uma suspensão de HR-1 Humber River Sediment 0,50 mg ml^{-1} (Figura 8). Desta forma, adotou-se este valor como vazão de trabalho para a água. A grande vantagem da estabilização do sinal relativo em função da vazão do fluido carregador consiste no ganho de frequência analítica na análise de suspensões por espectrografia.

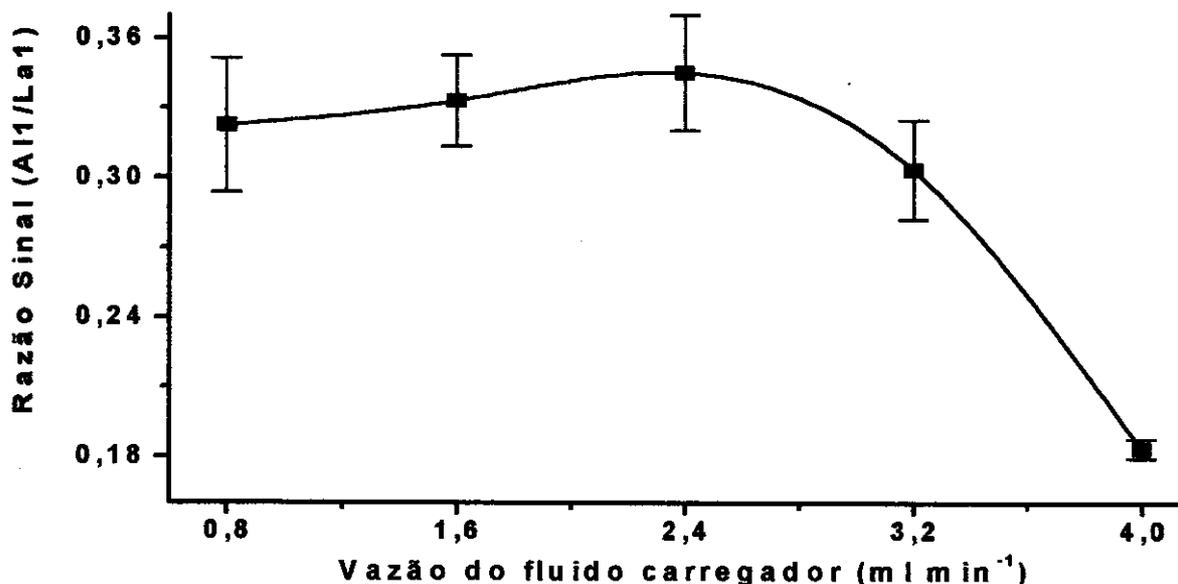


Figura 8. Efeito da vazão do fluido carregador do sistema de fluxo monossegmentado em função do sinal relativo de alumínio em 25 μ l em uma suspensão de HR-1 Humber River Sediment 0,50 mg ml⁻¹.

3.3. Figuras de mérito

Um mesmo conjunto de eletrodo e contra-eletrodo puderam ser utilizados para cerca de 80 determinações, entretanto, a cada 6 determinações era necessário o ajuste da distância entre os eletrodos e o ajuste de foco no alvo contido na fenda de entrada do espectrógrafo.

A frequência analítica foi de 45 amostras por hora, incluindo os tempos gastos na etapa de limpeza e no ajuste de foco e alinhamento entre os eletrodos.

A calibração do método pode ser realizada por meio de diferentes concentrações de uma suspensão de material certificado ou, mais facilmente ainda, com soluções analíticas de referência mediante a introdução de um fator de correção de 0,855. Este fator foi calculado a partir da relação entre os coeficientes angulares da curva de calibração obtida com soluções analíticas de referência e da curva de calibração obtida com suspensões, visto que esta relação

manteve-se constante. Assim, ao multiplicar o valor medido de uma amostra por este fator, encontra-se um novo valor que, ao ser aplicado na curva de calibração com padrões aquosos, torna-se possível a quantificação do teor de alumínio na amostra. Desta forma, o método torna-se mais vantajoso, principalmente para a análise de rotina, devido à simplicidade em se trabalhar com soluções analíticas de referência. Apesar disso, o emprego de soluções analíticas de referência está sujeito à determinação do fator de correção, o qual, provavelmente, deve ser realizada para cada tipo diferente de matriz.

Oteve-se uma faixa linear ($y = 0,008 + 0,0104 x$; $r > 0,998$; $n = 5$) para até 60 mg l^{-1} de solução padrão de alumínio. A curva de calibração com suspensões de material certificado exibiu a mesma faixa linear com as seguintes características: $y = 0,004 + 0,01218 x$; $r > 0,997$; $n = 5$. Ambas as curvas estão ilustradas na Figura 9. As demais características do método foram calculadas de acordo com as recomendações da IUPAC [183] e estão sumarizadas na Tabela 3.

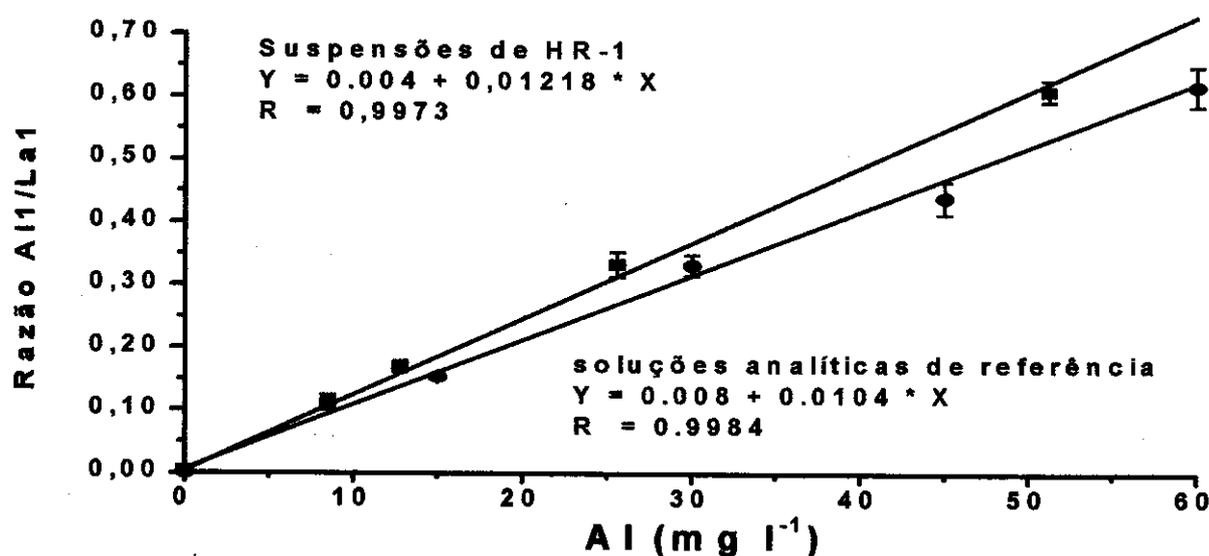


Figura 9. Curvas analíticas de calibração: preparadas a partir de diferentes concentrações de suspensão de HR-1 Humber River Sediment (■) e com soluções analíticas de referência (●).

Os resultados obtidos nas análises de sedimentos, expressos em mg g^{-1} Al, são mostrados na Tabela 4. A exatidão foi verificada pelos resultados obtidos com o material de referência e por comparação dos resultados obtidos na análise por ICP-AES. Aplicando-se o teste t , não houve diferença significativa entre os dois métodos em um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 3. Características analíticas do método proposto

Limite de Detecção (3σ , $n = 20$)	4,1 mg l^{-1}	
Limite de Quantificação ($n = 20$)	13,7 mg l^{-1}	
Precisão	Repetibilidade ($n=15$)	8,2 %
	Reprodutibilidade ($n=5$)	9,8 %

Tabela 4. Concentrações de alumínio (mg g^{-1}) encontrados nos sedimentos analisados por ICP-AES ($n=3$) e por Espectrografia ($n=5$).

Sedimento	(ICP-AES)	(Espectrografia)
amostra 1	65,7 \pm 1,3	64,4 \pm 6,9
amostra 2	61,4 \pm 1,2	65,3 \pm 4,5
amostra 3	95,1 \pm 1,1	94,1 \pm 9,2
amostra 4	22,7 \pm 0,6	21,1 \pm 2,1
amostra 5	50,7 \pm 1,0	52,6 \pm 4,4
amostra 6	68,4 \pm 0,9	63,7 \pm 7,9
amostra 7	54,3 \pm 0,5	55,0 \pm 5,2
amostra 8	38,8 \pm 0,7	40,7 \pm 3,7
amostra 9	102,8 \pm 1,5	102,8 \pm 6,7
amostra 10	36,5 \pm 0,6	35,4 \pm 1,7
ES 1464a *	22,1 \pm 0,3	22,7 \pm 2,1
HR-1 *	53,7 \pm 1,4	52,2 \pm 2,8
SL-1**	91,8 \pm 0,5	88,3 \pm 4,2

* Valor Certificado de Referência: 22,97 \pm 0,18 mg g^{-1}

* Valor de Referência: 51,2 mg g^{-1}

** Valor de Referência: 89,0 mg g^{-1}

4. Análise direta de chá e café para a determinação de alumínio por ETAAS em forno de grafite

A Espectrometria Atômica com Atomização Eletrotérmica (ETAAS) é uma técnica amplamente utilizada na determinação de traços de elementos em amostras biológicas e ambientais, devido a sua inerente sensibilidade e seletividade [184].

Com o desenvolvimento tecnológico da década de oitenta, foi possível o surgimento de acessórios e modificações que tornaram a ETAAS uma das técnicas que mais se tem adequado para a análise de suspensões.

Nesta etapa da Tese, propõe-se a determinação de alumínio em amostras de chá e café empregando-se, mais uma vez, a técnica de amostragem de suspensões detectando o analito por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS).

4.1. Material e Método

4.1.1. Instrumentação, materiais, reagentes e amostras

Utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica Perkin-Elmer (Überlingen, Alemanha) modelo 4100ZL, com sistema de correção de fundo por efeito Zeeman longitudinal equipado com uma lâmpada de cátodo oco de alumínio como fonte de radiação. Ajustou-se a resolução espectral para 0,7 nm e o comprimento de onda em 309,3 nm. As amostras, soluções analíticas de referência e modificadores foram introduzidos em um tubo de grafite do tipo

THGA (n° B050-4033) com plataforma integrada com o auxílio de um auto-amostrador AS-71 do mesmo fabricante.

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. Argônio (AGA) foi empregado como gás de purga. A água destilada e desionizada foi purificada por um sistema Milli-Q e o ácido nítrico (Merck) suprapuro ainda foi subdestilado em um destilador de quartzo Kürner.

As soluções analíticas de referência de alumínio (0, 50, 100, 150, 200 e 250 $\mu\text{g l}^{-1}$) foram preparadas em HNO_3 0,2 % v/v a partir de diluições seriais de uma solução padrão 1000 mg l^{-1} Titrisol Merck em alumínio.

Etanol, glicerol e Triton X-100 foram empregados nos estudos de estabilização das suspensões.

Nitrato de magnésio (Merck, Alemanha) foi utilizado como modificador químico.

As possíveis interferências de Na^+ (NaCl, Johnson Matthey, Royston, UK), K^+ (KCl, Johnson Matthey), Ca^{2+} (CaCO_3 , Johnson Matthey), Cl^- (HCl, Merck), PO_4^{3-} ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, Suprapur Merck), SO_4^{2-} (H_2SO_4 , Suprapur Merck) foram investigadas até 1000 mg l^{-1} , a partir de diluições seriais de suas respectivas soluções estoque.

As amostras de chá e café foram adquiridas em supermercados de Campinas e Piracicaba.

Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno (*Nalgene*). Os frascos plásticos, vidrarias e demais utensílios de laboratório foram descontaminados através de imersão em ácido nítrico 20 % v/v por 24 horas. Depois, o material era lavado 5 vezes com água Milli-Q e, em seguida, seco em uma capela de fluxo laminar Classe 100.

4.1.2. Preparo e análise das suspensões e da fase líquida

As amostras foram moídas com o auxílio de pistilo e almofariz de ágata por 15 min e peneiradas até atingirem um tamanho de partícula inferior a 105 μm . As amostras foram pesadas (30-50 mg) e transferidas para um béquer de 50 ml. A seguir, adicionou-se 20 ml de ácido nítrico 0,2 % v/v. O conjunto foi aquecido em uma chapa a 80-90 °C por 15 min. Transferiu-se a suspensão formada para um balão volumétrico de 50 ml, adicionou-se 25 ml de solução de Triton X-100 10 % v/v e o volume foi completado com água Milli-Q. A suspensão foi agitada manualmente durante 1 min e colocada em um banho de ultra-som por 10 min para garantir a homogeneização completa das partículas sólidas presentes na suspensão antes da análise. Em todos os casos, preparou-se um reagente branco em paralelo. Alíquotas de 20 μl da suspensão e 10 μl de solução de nitrato de magnésio a 1,0 % m/v como modificador químico foram introduzidas diretamente no tubo de grafite. Para estabelecer o teor de alumínio em fase líquida, aguardou-se cerca de 1 h para que todas as partículas sólidas da suspensão decantassem no fundo do balão. Em seguida, retirou-se 2 ml do sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta para ser analisado pelo mesmo procedimento descrito acima. A calibração do método foi realizada com soluções aquosas analíticas de referência. A Tabela 5 mostra o programa de aquecimento do forno usado para atomizar o alumínio das amostras e das soluções analíticas de referência.

4.1.3. Preparo e análise das amostras mineralizadas

Com o propósito de comparação, as amostras também foram analisadas (em triplicata) como descrito a seguir. Massas variando de 60 a 100 mg foram quantitativamente pesadas e transferidas para um tubo de digestão de 50 ml.

4.2.1. Estabilidade das suspensões

A estabilização da suspensão depende das características da amostra, concentração do agente estabilizante e tamanho de partícula [76,96].

Dá-se preferência à atomização eletrotérmica na técnica de amostragem de suspensões porque neste modo de atomização, a dependência do tamanho da partícula é menor [11,33,48,54,76]. Em acordo com esta afirmativa, obteve-se desvios padrão relativos na ordem de 5 % para tamanhos de partícula de até 105 μm . Assim, adotou-se trabalhar com este tamanho de partícula.

Uma maneira simples de se manter a suspensão homogênea é através da técnica do borbulhamento de um gás inerte no seio da suspensão [82]. Com este propósito, desenvolveu-se um sistema de borbulhamento semelhante ao proposto por Bendicho e de Loos-Vollebregt [82], no qual argônio fluía através de um tubo capilar introduzido na suspensão. Entretanto, devido aos grandes desvios padrão obtidos (16-18%), esta técnica foi descartada.

Outro parâmetro ligado à estabilidade da suspensão é o uso de um agente tixotrópico, o qual geralmente é imprescindível no intuito de estabilizar as partículas da suspensão formada [76]. O agente estabilizante atua retardando a taxa de sedimentação do material suspenso e evitando a aglomeração de partículas.

Dentre os compostos mais empregados como agente estabilizante na análise de suspensões de materiais biológicos, e, por extensão, alimentos, pode-se citar o etanol [27-32], glicerol [11,16,20,49,97] e Triton X-100 [91-93]. Por esta razão, esses três compostos foram escolhidos para se avaliar a estabilidade da suspensão de café.

Realizou-se, então, um estudo preliminar no sentido de identificar qual das três substâncias era capaz de estabilizar a suspensão por um maior intervalo

de tempo. Suspensões de café (0,1 % m/v) foram preparadas em balões volumétricos de 50 ml, nos quais foram adicionadas, individualmente, uma determinada quantidade do agente estabilizante, resultando nas seguintes concentrações de estabilizante na suspensão: 0,1; 1,0, 10,0 e 15,0 % v/v. Cada suspensão foi agitada manualmente por 30 s e, em seguida, transferida imediatamente para uma cubeta espectrofotométrica com 1 cm de caminho ótico. A cubeta foi posicionada no caminho ótico de um espectrofotômetro de feixe simples Micronal ($\lambda = 560 \text{ nm}$) e a intensidade de radiação foi monitorada a cada 30 s, durante 15 min. A Figura 10 compara a estabilização da suspensão de café na ausência e presença dos agentes estabilizantes. Para cada agente mostra-se apenas a curva correspondente à concentração do agente que proporcionou a melhor estabilização da suspensão. Nota-se que o Triton X-100 estabilizou a suspensão por um tempo maior, visto que, quanto menos inclinada for a curva, menor é a taxa de sedimentação do material sólido. Por isso, o Triton X-100 foi selecionado para um estudo mais depurado no próprio espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer. Trabalhou-se com a suspensão de café 0,1 % m/v na presença nas seguintes concentrações de Triton X-100 na suspensão: 0,05; 0,1; 1,0, 10,0 e 15,0 % v/v. A absorbância foi medida nove vezes para cada suspensão e construiu-se um gráfico de concentração de Triton X-100 *versus* absorbância. Algumas concentrações de Triton X-100 foram avaliadas para estabelecer a precisão mais conveniente e a melhor sensibilidade. (Figura 11). Observou-se desvios maiores quando se trabalhou com concentrações inferiores a 10 % v/v. Este comportamento é previsível devido à pouca quantidade de Triton X-100 ser insuficiente para estabilizar a suspensão. Por outro lado, quando a concentração de Triton X-100 foi igual ou superior a 10 % v/v, obteve-se desvios menores. Entretanto, notou-se um decréscimo significativo do sinal

analítico quando a concentração foi maior que 10 % v/v. Isto ocorreu, provavelmente, devido à excessiva quantidade de Triton X-100 que, frequentemente causa um escoamento ineficiente da amostra, ou a produção de resíduo carbonáceo no tubo de grafite [21,130]. Este resíduo carbonáceo afeta, eventualmente, a sensibilidade da análise pois pode bloquear parcialmente a passagem do feixe ótico. Assim, 10% v/v foi escolhida como a concentração ótima de Triton X-100. Por precaução, decidiu-se também introduzir uma etapa adicional de pirólise (600 °C por 10 s) no programa de aquecimento com o propósito de auxiliar na eliminação do Triton X-100 antes da atomização da amostra. A inclusão desta etapa auxiliar será discutida mais adiante (item 4.2.3).

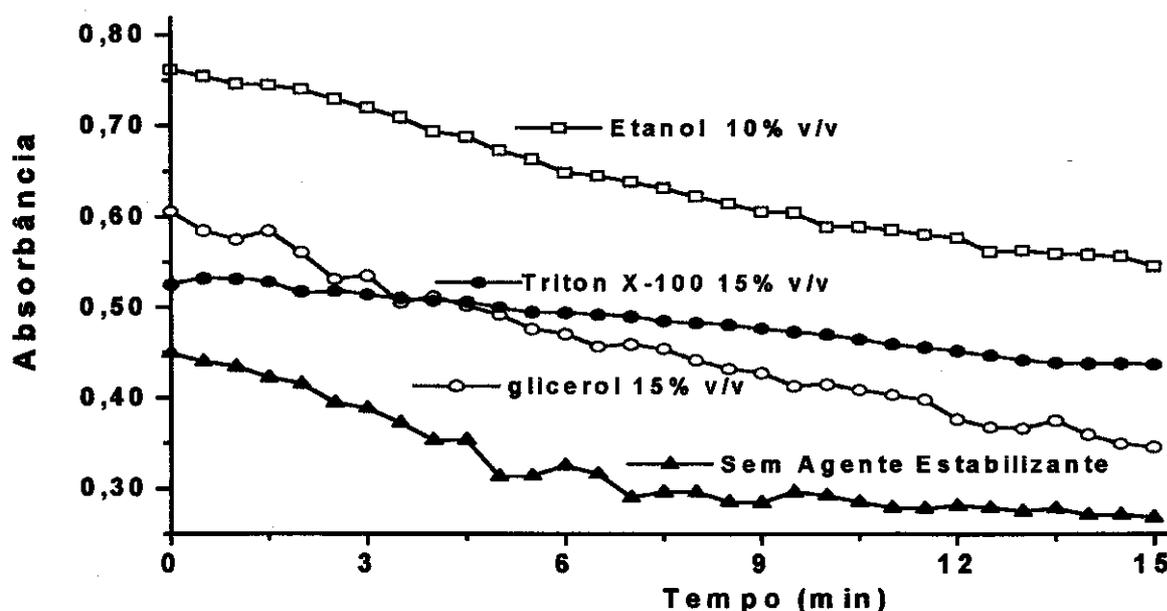


Figura 10. Estabilização da suspensão de café na ausência e presença dos agentes estabilizantes.

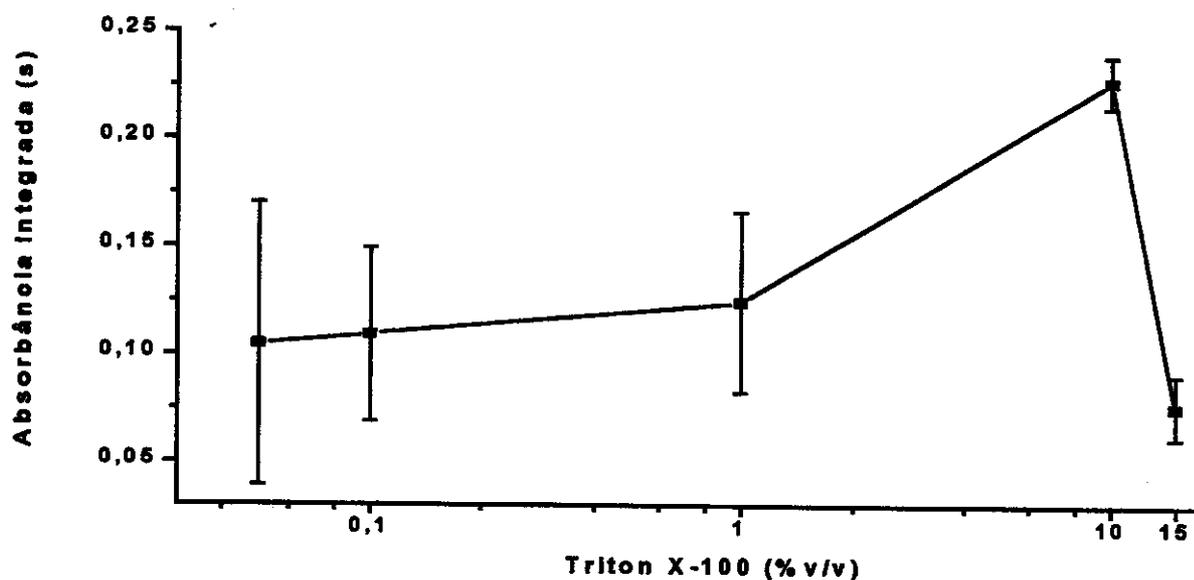


Figura 11. Efeito da concentração de Triton X-100 na estabilização da suspensão de café.

4.2.2. Acidez

Em estudos preliminares com respeito à quantificação de alumínio em diferentes tipos de amostras e materiais de referência, Viñas *et al.* [31] não conseguiram adequada reprodutibilidade quando somente água era empregada como diluente. Além disso, sabe-se que o uso de ácido nítrico como diluente aumenta a extração do analito para a fase líquida da suspensão, podendo melhorar a sensibilidade e a precisão do método [93]. Por estas razões, a adição de ácido nítrico ao meio é amplamente recomendada [11,31-34,36,48,93,117]. Entretanto, é importante alertar que quanto maior for a acidez, menor será o tempo de vida do tubo de grafite. Assim, foi satisfatório empregar uma solução de ácido nítrico 0,2 % v/v, visto que, nesta concentração, alcançaram-se bons resultados com relação à sensibilidade e desvio padrão das medidas (Figura 12). Convém acrescentar que o aumento da acidez também afetou o desvio padrão relativo entre as medidas, conforme ilustra a Figura 12.

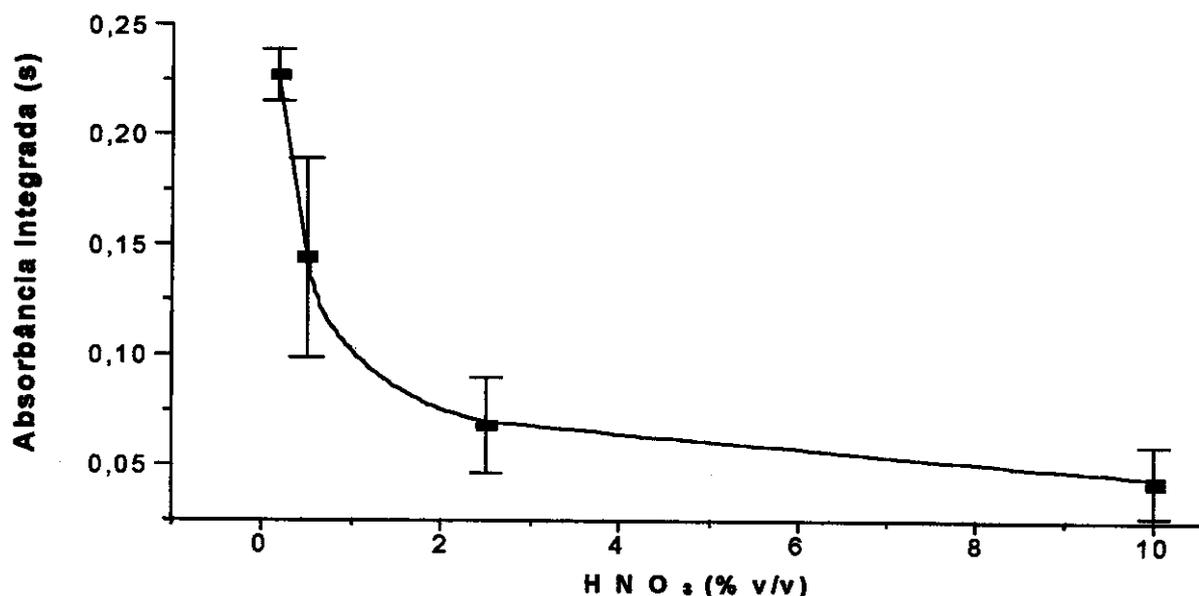


Figura 12. Efeito da concentração de HNO₃ na estabilização da suspensão de café.

4.2.3. Otimização das condições do forno

Após definir as condições de estabilização e de acidez, desenvolveu-se o programa de aquecimento do forno de grafite (Tabela 5 – item 4.1.3).

Tentou-se trabalhar com um programa rápido de aquecimento [15,31,49,185], contudo, não foi possível, pois os desvios padrão entre as medidas foram superiores a 10 %. Estes altos desvios foram atribuídos ao elevado teor de matéria orgânica na amostra. Como consequência, essa metodologia foi descartada e, então, otimizou-se um programa convencional usando atomização em plataforma. As temperaturas de pirólise e atomização foram determinadas através de experimentos envolvendo suspensão de café e solução analítica de referência. O programa final incluiu três rampas de temperatura na etapa de secagem para assegurar uma evaporação suave e prevenir respingos de amostra para fora da plataforma no momento da atomização.

De acordo com a sugestão de alguns trabalhos [94,97], adicionou-se uma etapa auxiliar de pirólise a 600°C durante 10 s com o objetivo de se destruir o excesso de matéria orgânica presente na amostra. Otimizou-se a etapa principal de pirólise variando a temperatura desta etapa de 1200 a 2200°C, mantendo constante as condições das etapas de secagem e atomização. Determinou-se 1700°C durante 20 s como a melhor condição de pirólise da amostra. Entretanto, é válido ressaltar que embora não houvesse perda de sinal analítico em situações em que a pirólise se prolongasse até 1900°C, obteve-se desvios padrão relativos da ordem de 14 %. Logo, como compromisso, optou-se em trabalhar com uma temperatura de pirólise um pouco mais baixa, onde os desvios padrão relativos se situassem em valores inferiores a 5%.

Estes experimentos foram realizados na ausência e também na presença de nitrato de magnésio (10 µl de uma solução 1,0 % m/v) como modificador químico, tanto para a solução analítica de referência (20 µl de uma solução 100 µg l⁻¹) como para a suspensão de café (20 µl de 0,1 % m/v).

A temperatura de atomização foi investigada na faixa de 2000 a 2500°C. O sinal máximo foi alcançado a 2300°C, tanto para a suspensão de café como para a solução analítica de referência de alumínio. Deve-se destacar que sob este programa de aquecimento otimizado, não se observou formação significativa de resíduo carbonáceo. Os resultados das curvas de pirólise e atomização são apresentados na Figura 13. Por uma questão de simplicidade, omitiu-se as barras de desvios, bem como as curvas de atomização na ausência de modificador químico.

Com relação ao uso de modificadores químicos, vários pesquisadores desenvolveram uma série de estudos sobre os mais diversos compostos em diferentes concentrações para a determinação de alumínio por ETAAS

[33,35,117,186,187]. Eles concluíram que o nitrato de magnésio apresentou os melhores resultados para este propósito. Assim, adotou-se este sal como modificador químico no desenvolvimento do método. Tendo escolhido o modificador, realizou-se, então, experimentos visando identificar a concentração mais apropriada de nitrato de magnésio. Investigou-se a concentração de nitrato de magnésio até 1,0 % m/v, considerando sempre a injeção de 10 µl de modificador. Embora não se tenha observado diferença significativa no perfil do sinal, e nem altos valores de sinal de fundo (somente *ca.* 0,005 A.s), as concentrações inferiores a 1,0 % m/v exibiram sempre grandes desvios padrão relativos (*ca.* 22%) comparados aos desvios obtidos (<5 %) com a concentração de 1,0 % m/v de nitrato de magnésio. Por este motivo, 1,0 % m/v foi escolhida como a concentração ótima de nitrato de magnésio.

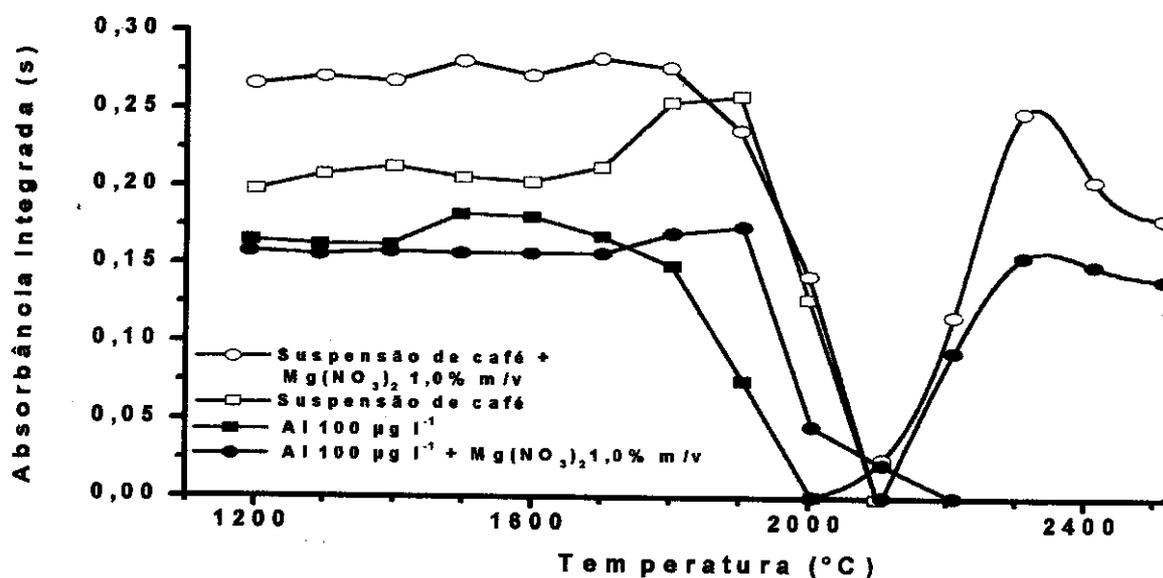


Figura 13. Curvas de pirólise e atomização para 20 µl de uma solução 100 µg l⁻¹ Al ou 20 µl de uma suspensão de café (0,1 % m/v), ambas em meio HNO₃ 0,2 % v/v na ausência ou na presença de 10 µl de Mg(NO₃)₂ como modificador químico. As curvas de atomização foram realizadas somente na presença de Mg(NO₃)₂.

4.2.4. Seletividade

Realizou-se um estudo detalhado para se certificar da ausência de efeito de matriz. Os principais concomitantes encontrados em chá e café são cálcio, sódio, potássio, cloreto, sulfato e fosfato. Seus teores na matéria seca variam de 0,1 a 1,1 % m/m [147]. Portanto, esse estudo consistiu basicamente na injeção sequencial de 10 μ l da solução analítica de referência de alumínio 100 μ g l⁻¹, 10 μ l do modificador químico e 10 μ l de cada espécie concomitante em diferentes concentrações (50 a 1000 mg l⁻¹). Os resultados são apresentados na Figura 14 como porcentagem de interferência. As interferências de cálcio e sulfato no sinal analítico do alumínio foram notadas quando as concentrações dessas espécies foram superiores a 250 mg l⁻¹. Interferências de sódio e cloreto só foram observadas após 500 mg l⁻¹, ao passo que as demais espécies não causaram variações significativas ($\pm 10\%$) no sinal analítico até 1000 mg l⁻¹. Estes resultados indicam uma boa seletividade do método para o alumínio, pois é interessante atentar para o fato de que, ao se considerar o efeito da diluição em uma suspensão 0,1 % m/v, a concentração dos concomitantes é atenuada para uma faixa de 1,0 a 11 mg l⁻¹, estando, portanto, essa faixa de concentração muito aquém daquela em que os concomitantes começam a interferir significativamente no sinal analítico.

Como complemento ao estudo da seletividade, empregou-se o método da curva de calibração com adição de padrão. De acordo com a IUPAC [183], o efeito de matriz é desprezível desde que a razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração com soluções analíticas de referência e de adição de padrão esteja dentro do intervalo 0,90-1,10. Para comprovar a ausência de quaisquer efeitos de matriz, construiu-se uma curva de adição de padrão a partir

de uma suspensão de café 0,1 % m/v (Figura 15), realizando todas as medidas em triplicata. Sob as condições experimentais recomendadas, a curva de calibração com soluções analíticas de referência forneceu um coeficiente angular de $0,09091 \pm 0,0034 \text{ s ng}^{-1}$ contra um coeficiente angular de $0,09487 \pm 0,0051 \text{ s ng}^{-1}$ obtido com a curva de adição de padrão. Ao se calcular a razão entre as duas curvas exibidas na Figura 15, encontrou-se o valor 0,96, sugerindo que a calibração pelo método de padrões aquosos é válida. Nota-se que as curvas de calibração relacionam a massa de alumínio, e não sua concentração, com a absorbância integrada. Esta prática é muito comum em se tratando de ETAAS, visto que, após a secagem da amostra, uma massa discreta de amostra encerra-se no interior do tubo de grafite. As massas de alumínio foram calculadas multiplicando-se a concentração da solução analítica referência ($50\text{-}250 \mu\text{g l}^{-1}$) pelo volume de amostra injetado ($10\text{-}20 \mu\text{l}$).

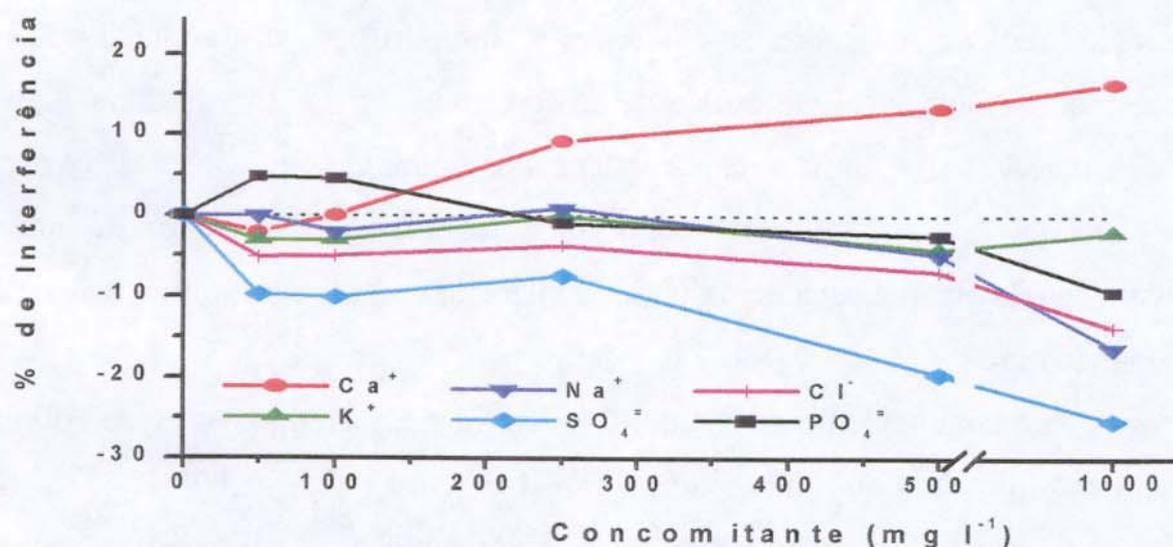


Figura 14. Efeito dos concomitantes na atomização de 10 µl de uma solução 100 µg l⁻¹ Al. A linha tracejada representa a leitura do sinal na ausência de concomitantes.

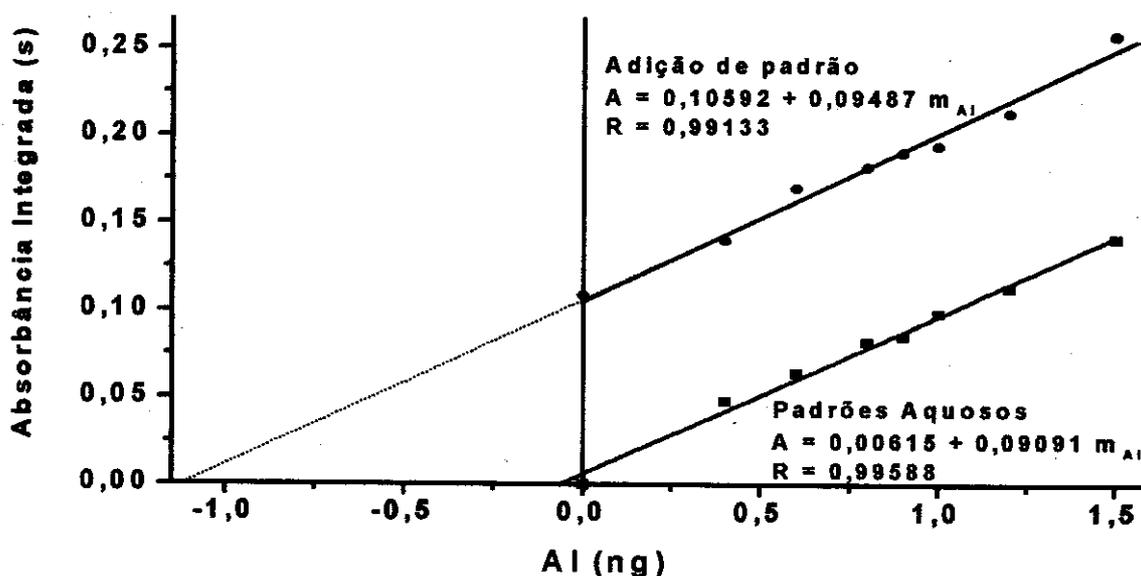


Figura 15. Curvas analíticas de calibração obtidas a partir de soluções analíticas de referência de alumínio (■) e por adição de padrão na suspensão de café (●), ambas na presença de $Mg(NO_3)_2$ 1,0 % m/v como modificador químico; $n = 3$.

4.3. Figuras de mérito

Sob as condições de aquecimento do forno previamente estabelecidas (Tabela 5), o limite de detecção foi calculado de acordo com as recomendações da IUPAC [183]. Esta e as demais características do método estão resumidas na Tabela 6.

Tabela 6. Características analíticas do método proposto

Faixa Linear ($r > 0,9985$; $n = 5$)	0 - 250 $\mu g l^{-1}$	
Limite de Detecção ($n = 20$)	2 $\mu g l^{-1}$	
Limite de Quantificação ($n = 20$)	6,7 $\mu g l^{-1}$	
Massa Característica	45 pg	
Concentração Característica	4,5 $\mu g l^{-1}$	
Precisão	Repetibilidade ($n=3$)	5,3 %
	Reprodutibilidade ($n=9$)	9,8 %

4.4. Análise das amostra de chá e café

Várias amostras de chá e café foram analisadas com um mínimo de preparo (como descrito no item 4.1.2.). Nesse sentido, as amostras na forma de suspensão foram analisadas com o propósito de comparar os resultados com aqueles obtidos na análise do material digerido. Através do teste *t* pôde-se avaliar que os resultados obtidos pelos dois métodos foram similares em um intervalo de confiança de 95 %.

Os teores de alumínio, expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$, encontrados nas amostras analisadas de chá e café pelo método proposto são mostrados na Tabela 7, a qual também exhibe o alumínio extraído para a fase aquosa. Ainda é válido comentar que não existe uma relação entre o alumínio total e o extraído. Como se nota na Tabela 7, os valores variaram de 22,5 a 54,3 % de alumínio extraído na fase aquosa quando comparado aos resultados obtidos com a análise da suspensão. Admitindo-se que as marcas de café são procedentes de diferentes regiões do Brasil, esta grande variação de alumínio extraído pode ser atribuída às diferenças no pH do solo, o qual origina várias formas de alumínio (livre ou complexados) em cada tipo de solo, dependendo tanto da região como de fatores climáticos. Uma outra explicação poderia ser a adição de adulterantes, mais popularmente conhecidos como “cargas”, no produto final. Na cafeicultura, particularmente, usa-se uma prática comum, porém desonesta, de se adicionar farelo de milho, “diluindo” assim o pó de café.

Como um parâmetro especulativo, pode-se comentar que a extração do alumínio no chá (63,6%) parece ser mais efetiva do que no café. Entretanto, esta observação não pode ser conclusiva porque somente uma amostra de suspensão de chá foi analisada.

Tabela 7. Concentrações de alumínio ($\mu\text{g g}^{-1}$) em amostras de chá/café obtidas pela análise das suspensões e das amostras mineralizadas (n=5)

<i>Amostra</i>	<i>Fase aquosa (% Al extraído)</i>	<i>Suspensão</i>	<i>Mineralizada</i>
café 1	22,5	64,8±7,7	62,7±3,6
café 2	54,3	63,0±6,5	70,3±3,9
café 3	31,6	143,8±17,6	141,2±3,0
café 4	45,2	63,5±8,0	62,9±1,0
café 5	41,6	119,3±8,4	113,8±1,8
café 6*†	-	4,7±0,5	4,5±0,1
chá mate 1*	-	176,5±5,0	171,3±4,4
chá mate 2	63,6	207,6±21,0	212,8±10,5

* *Bebida solúvel*

† *concentração da suspensão e amostra mineralizada: 500 mg / 50 ml*

5. Conclusão do Capítulo I

Embora a espectrografia tenha sido empregada com maior frequência até a década de 70, seu uso acoplado com outras técnicas pode ser ainda uma alternativa interessante no sentido de resolver alguns problemas analíticos. Percebe-se que, neste trabalho, a aplicação da amostragem de suspensões à espectrografia e sistema de fluxo monossegmentado melhorou o desempenho do processo analítico resultando em uma análise rápida e eficiente, principalmente quando se considera que sedimento é uma amostra relativamente resistente a processos de dissolução. Os problemas relacionados com a contaminação ou perda do analito poduseram ser minimizados com o uso desta técnica hifenada, sendo possível sua aplicação na matriz já citada, cuja análise fornece resultados de qualidade em um tempo menor, podendo-se, com o seu emprego, evitar a dissolução da amostra.

Com relação ao método para o alumínio, este pôde ser determinado em suspensões de chá e café com um mínimo de pré-tratamento usando ETAAS como técnica de detecção. A precisão e a exatidão foram aceitáveis e as possibilidades de contaminação foram diminuídas significativamente. O limite de detecção, os desvios padrão e a sensibilidade foi adequada para a faixa de concentração do analito nas amostras e são comparáveis aos valores apresentados em vários trabalhos [11,31-33,35,57]. Portanto, o método proposto pode, seguramente, ser aplicado como um método alternativo em análises de rotina.

6. Bibliografia

- [1] Sulcek, Z.; Povondra, P.; *Methods of Decomposition in Inorganic Analysis*, CRC Press, Boca Raton – Florida: 1989, 325 p.
- [2] Bock, R.; *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, International Texbook, Glasgow: 1979, 444p.
- [3] Van Loon, J. C.; *Anal. Chem.*, 1980, **52**, 955A.
- [4] Berndt, H.; *Spectrochim. Acta*, 1984, **39B**, 1121.
- [5] Stupar, J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1986, **1**, 373.
- [6] Campos, R. C.; Curtius, A.; Berndt, H.; *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1990, **5**, 669.
- [7] Magalhães, C. E. C.; Krug, F. J.; Fostier, A. H.; Berndt, H.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 1231.
- [8] Brady, D. V.; Montalvo, J. G.; Jung, J.; Curran, R. A.; *At. Absorpt. Newsl.*, 1974, **13**, 118.
- [9] Brady, D. V.; Montalvo, J. G.; *Anal. Chim. Acta*, 1974, **70**, 448.
- [10] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Quim. Anal.*, 1995, **14**, 17.
- [11] Miller-Ihli, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 73.
- [12] Ebdon, L.; Wilkinson, J. R.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1986, **2**, 235.
- [13] García, I. L.; Sobejano, F. O.; Córdoba, M. F.; *Analyst*, 1991, **116**, 517.
- [14] Fuller, C. W.; *Analyst*, 1976, **101**, 961.
- [15] Hinds, M. W.; Latimer, K. E.; Jackson, K. W.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 473.
- [16] Barrera, P. B.; Alonso, C. B.; Somoza, M. A.; Barrera, A. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* 1994, **9**, 469.
- [17] Klemm, W.; Bombach, G.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1995, **353**, 12.
- [18] Ebdon, L.; Foulkes, M.; O'Hanlon, K.; *Anal. Chim. Acta*, 1995, **311**, 123.
- [19] Hinds, M. W.; Katyal, M.; Jackson, K. W.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 83.
- [20] Hoenig, M.; Regnier, P.; Wollast, R.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 631.
- [21] Stephen, S. C.; LittleJohn, D.; Ottaway, J. M.; *Analyst*, 1985, **110**, 1147.
- [22] Stephen, S. C.; Ottaway, J. M.; LittleJohn, D.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1987, **328**, 346.
- [23] Brown, A. A.; Halls, D. J.; Taylor, A.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 45R.
- [24] Madrid, Y.; Bonilla, M.; Cámara, C.; *Analyst*, 1990, **115**, 563.
- [25] Córdoba, M. H.; García, I. L.; *Talanta*, 1991, **38**, 1247.
- [26] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Food Chem.*, 1993, **46**, 307.
- [27] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 2024.
- [28] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Analyst*, 1994, **119**, 1119.
- [29] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1994, **349**, 306.

- [30] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Food Chem.*, 1994, **50**, 317.
- [31] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Talanta*, 1995, **42**, 527.
- [32] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1995, **351**, 695.
- [33] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 3331.
- [34] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 657.
- [35] Arruda, M. A. Z.; Quintela, M. J.; Gallego, M.; *Analyst*, 1994, **119**, 1695.
- [36] Januzzi, G.; Krug, F. J.; Arruda, M. A. Z.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 375.
- [37] Andrade, J. C.; Strong III, F. C.; Martin, N. J.; *Talanta*, 1990, **37**, 711.
- [38] Cervera, M. L.; Navarro, A.; Montoro, R.; de la Guardia, M.; Salvador, A.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 477.
- [39] Cabrera, C.; Lorenzo, M. L.; Lopez, M. C.; *J. AOAC Int.*, 1995, **78**, 1061.
- [40] Cabrera, C.; Lorenzo, M. L.; Lopez, M. C.; *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1605.
- [41] Mohamed, N.; Fry, R. C.; *Anal. Chem.*, 1981, **53**, 450.
- [42] Ebdon, L.; Foulkes, M. E.; Parry, H. G. M.; Tye, C. T.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 753.
- [43] Ebdon, L.; Collier, A. R.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 557.
- [44] Ebdon, L.; Foulkes, M. E.; Hill, S.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 67.
- [45] Barrera, P. B.; Alonso, M. J. L.; Somoza, M. A.; Barrera, A.; *Mikrochim. Acta*, 1994, **117**, 49.
- [46] Robles, L. C.; Aller, A. J.; *Talanta*, 1995, **42**, 1731.
- [47] Friese, K. C.; Krivan, V.; *Anal. Chem.*, 1995, **67**, 354.
- [48] Miller-Ihli, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 205.
- [49] Barrera, P. B.; Piñeiro, A. M.; Piñeiro, J. M.; Barrera, A. D.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 301.
- [50] Xiao-quan, S.; Shen, L.; Zhe-ming, N.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 99.
- [51] Dobrowolski, R.; Mierzwa, J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1992, **344**, 340.
- [52] de Benzo, Z. A.; Velosa, M.; Ceccarelli, C.; de la Guardia, M.; Salvador, A.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1991, **339**, 235.
- [53] Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Riby, P.; Shuttler, I. L.; Tyson, J. F.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 213R.
- [54] Miller-Ihli, N. J.; *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 964A.
- [55] Mochizuki, T.; Sakashita, A.; Iwata, H.; Ishibashi Y.; Gunji, N.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1991, **339**, 889.
- [56] Bin, H.; Zucheng, J.; Yun'e, Z.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1991, **340**, 435.
- [57] Manickum, C. K.; Verbeek, A. A.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 227.
- [58] Yongchao, Q.; Zucheng, J.; Yun'e, Z.; Bin, H.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 455.

- [59] Barth, P.; Krivan, V.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 773.
- [60] de la Guardia, M.; Salvador, A.; Bayarri, P.; Farre, R.; *Analyst*, 1986, **111**, 1375.
- [61] Salvador, A.; de la Guardia, M.; *At. Spectrosc.*, 1888, **9**, 195.
- [62] Butcher, D. J.; Irwin, R. L.; Takahashi, J.; Su, G.; Wei, G.; Michel, R. G.; *Appl. Spectrosc.*, 1990, **44**, 1521.
- [63] Bin, H.; Zucheng, J.; Yun'e, Z.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 623.
- [64] Huang, M.; Jiang, Z. C.; Zeng, Y. E.; *Anal. Sci.*, 1991, **7**, 773.
- [65] Hu, B.; Jiang, Z. C.; Zeng, Y. E.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1991, **340**, 435.
- [66] Huang, M.; Jiang, Z. C.; Zeng, Y. E.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 221.
- [67] Hu, B.; Jiang, Z. C.; Zeng, Y. E.; *Anal. Chim. Acta*, 1994, **296**, 213.
- [68] Qin, Y. C.; Jiang, Z. C.; Zeng, Y. E.; Hu, B.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 455.
- [69] Jiang, Z. C.; Hu, B.; Qin, Y. C.; Zeng, Y. E.; *Microchem. J.*, 1996, **53**, 326.
- [70] Hu, B.; Jiang, Z. C.; Qin, Y. C.; Zeng, Y. E.; *Anal. Chim. Acta*, 1996, **319**, 255.
- [71] Darke, S. A.; Pickford, C. J.; Tyson, J. F.; *Anal. Proc.*, 1989, **26**, 379.
- [72] Voellkopf, U.; Paul, M.; Denoyer, E. R.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1992, **342**, 917.
- [73] Gregoire, D. C.; Miller-Ihli, N. J.; Sturgeon, R. E.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 605.
- [74] Liaw, M. J.; Jiang, S. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1996, **11**, 555.
- [75] Miller-Ihli, N. J.; *Spectrochim. Acta*, 1995, **50B**, 477.
- [76] Bendicho, D.; de Loos-Vollebregt, M. T. C.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 353.
- [77] Slovak, Z.; Docekal, B.; *Anal. Chim. Acta*, 1981, **129**, 263.
- [78] Jackson, K. W.; Newman, A. P.; *Analyst*, 1983, **108**, 261.
- [79] Docekal, B.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 763.
- [80] Epstein, M. S.; Carnick, G. R.; Slavin, W.; Miller-Ihli, N. J.; *Anal. Chem.*, 1989, **61**, 1414.
- [81] Hinds, M. W.; Jackson, K. W.; *At. Spectrosc.*, 1991, **12**, 109.
- [82] Bendicho, D.; de Loos-Vollebregt, M. T. C.; *Spectrochim. Acta*, 1990, **45B**, 679.
- [83] Miller-Ihli, N. J.; *At. Spectrosc.*, 1992, **13**, 1.
- [84] Bradshaw, D.; Slavin, W.; *Spectrochim. Acta*, 1989, **44B**, 1245.
- [85] Miller-Ihli, N. J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1993, **345**, 482.
- [86] Hoenig, M.; Cilissen, A.; *Spectrochim. Acta*, 1993, **48B**, 1303.
- [87] Miller-Ihli, N. J.; *US patent* 1990, **4,930,898**.
- [88] Hinds, M. W.; Jackson, K. W.; Newman, A. P.; *Analyst*, 1985, **110**, 947.
- [89] Lynch, S.; Littlejohn, D.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **4**, 157.
- [90] Haraldsen, L.; Pougnet, M. A. B.; *Analyst*, 1989, **114**, 1331.
- [91] Miller-Ihli, N. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 295.
- [92] Miller-Ihli, N. J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1990, **337**, 271.

- [93] Dobrowolski, R.; Mierzwa, J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1993, **346**, 1058.
- [94] Fuller, C. W.; Thompson, I.; *Analyst*, 1977, **102**, 141.
- [95] Ebdon, L.; Parry, H. G. M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1987, **2**, 131.
- [96] Littlejohn, D.; Stephen, S. C.; Ottaway, J. M.; *Anal. Proc.*, 1985, **22**, 376.
- [97] Hoenig, M.; Van Hoeyweghen, P.; *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2614.
- [98] Albers, D.; Sacks, R.; *Anal. Chem.*, 1987, **59**, 593.
- [99] Garcia, I. L.; Viñas, P.; Campillo, N.; Córdoba, M. H.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 529.
- [100] Lynch, S.; Littlejohn, D.; *Talanta*, 1990, **37**, 825.
- [101] Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Shuttler, I. L.; Tyson, J. F.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 187R.
- [102] Goodall, P.; Foulkes, M. E.; Ebdon, L.; *Spectrochim. Acta*, 1993, **48B**, 1563.
- [103] Majidi, V.; Holcombe, J. A.; *Spectrochim. Acta*, 1990, **45B**, 753.
- [104] Saba, C. S.; Rhine, W. E.; Eisentraut, K. J.; *Appl. Spectrosc.*, 1985, **39**, 689.
- [105] Miller-Ihli, N. J.; *Spectrochim. Acta*, 1989, **44B**, 1221.
- [106] Viñas, P.; Campillo, N.; García, I. L.; Córdoba, M. H.; *At. Spectrosc.*, 1995, **16**, 86.
- [107] Fagioli, F.; Landi, S.; *Anal. Lett.*, 1983, **16**, 1435.
- [108] Fagioli, F.; Landi, S.; Locatelli, C.; Bigli, C.; *At. Spectrosc.*, 1986, **7**, 49.
- [109] Avila, R. M.; Carbonell, V.; de la Guardia, M.; Salvador, A.; *J. A. O. A. C. int.*, 1990, **73**, 389.
- [110] Rubio, A. M.; Salvador, A.; de la Guardia, M.; *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1992, **342**, 452.
- [111] Carbonell, V.; Rubio, A. M.; Salvador, A.; de la Guardia, M.; Burguera, J. L.; Burguera, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 1085.
- [112] Haswell, S. J.; Barclay, D.; *Analyst*, 1992, **117**, 117.
- [113] Gluodenis Jr., T. J.; Tyson, J. F.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 301.
- [114] Gluodenis Jr., T. J.; Tyson, J. F.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 697.
- [115] Cabrera, C.; Madrid, Y.; Camara, C.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 1423.
- [116] Rubio, A. M.; Mena, M. L.; McLeod, C. W.; *Anal. Chim. Acta*, 1995, **308**, 364.
- [117] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 501.
- [118] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1996, **11**, 169.
- [119] Arruda, M. A. Z.; Fostier, A. H.; Krug, F. J.; *J. Braz. Chem. Soc.*, 1997, **8**, 39.
- [120] Kingston, H. M.; Jassie, L. B.; *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2534.
- [121] Karanassios, V.; Li, F. H.; Liu, B.; Salin, E. D.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 457.
- [122] Bastiaans, G. J.; Hieftje, G. M.; *Anal. Chem.*, 1974, **46**, 901.
- [123] Fuller, C. W.; Hutton, R. C.; Preston, B.; *Analyst*, 1981, **106**, 913.
- [124] Vien, S. H.; Fry, R. C.; *Appl. Spectrosc.*, 1988, **42**, 381
- [125] Ebdon, L.; Collier, A. R.; *Spectrochim. Acta*, 1988, **43B**, 355.

- [126] Ebdon, L.; Foulkes, M.; Sutton, K.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 213.
- [127] Holcombe, J. A.; Majidi, V.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 423.
- [128] Williams, J. G.; Gray, A. L.; Norman, P.; Ebdon, L.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1987, **2**, 469.
- [129] Hinds, M. W.; Jackson, K. W.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 997.
- [130] Ebdon, L.; Parry H. G. M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 131.
- [131] Slavin, W.; Carnick, G. R.; Manning, D. C.; Pruszkowska, E.; *At. Spectrosc.*, 1983, **4**, 69.
- [132] Ediger, R. D.; *At. Absorption Newslett.*, 1975, **14**, 127.
- [133] Kirkbright, G. F.; Shan, H. -C.; Snook, R. D.; *At. Spectrosc.*, 1986, **1**, 85.
- [134] Pinel, R.; Benabdallah, M. Z.; Astruc, A.; Astruc, M.; *Anal. Chim. Acta*, 1986, **181**, 187.
- [135] Wagley, D.; Schmiedel, D.; Mainka, E.; Ache, H. J.; *At. Spectrosc.*, 1989, **10**, 106.
- [136] Tsalev, D. L.; *At. Spectrosc.*, 1991, **12**, 169.
- [137] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Ferreira, A. T.; Barbosa Jr, F.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 269.
- [138] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Jackson, K. W.; *Spectrochim. Acta Part B*, 1998, **53**, 1791.
- [139] Kuzovlev, I. A.; Kuznetsov, Y. N.; Sverdlina, O. A., *Zavod, Lab.*, 1973, **39**, 428.
- [140] Iwamoto, E.; Shimazu, H.; Yokota, K.; Kumamaru, T.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 421.
- [141] Slaveykova, V. I.; Lampugnani, L.; Tsalev, D. L.; Sabbatini, L., *Spectrochim. Acta Part B*, 1997, **52**, 2115.
- [142] Michaelis, M. R. A.; Wegscheider, W.; Ortner, H. M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 503.
- [143] Volynsky, A. B.; Sedykh, E. M., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 71.
- [144] Shrivastava, A. K.; *Rev.in Anal. Chem.*, 1995, **14**, 143.
- [145] Campbell, P. G. C.; Bisson, M.; Boagie, R.; Tessier, A.; Villeneuve, J. P.; *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 2246.
- [146] Belitz, H. D.; Grosch, W. (translated by D. Hadziyev), *Food Chemistry*, Springer Verlag, New York: 1987, 774 p.
- [147] Massey, R.; Taylor, S.; *Aluminium in Food and the Environment*, Vol. 20, Royal Society of Chemistry, London: 1991, 108p.
- [148] J. E. A. T. Pennington, *Food Add. Contam.* 1988, **5**, 161.
- [149] Daskalakis, K. D.; O'connor, T. P.; *Environ. Sci. Technol.*, 1995, **29**, 470.
- [150] Carral, E.; Puente, X.; Villares, R.; Carballeira, A.; *Sci. Total Environ.*, 1995, **172**, 175.
- [151] Pardue, J. H.; DeLaune, R. D.; Patrick Jr., W. H.; *J. Environ. Qual.*, 1992, **21**, 539.

- [152] Ravichandran, M.; Baskaran, M.; Santschi, P. H.; Bianchi, T. S.; *Environ. Sci. Technol.*, 1995, **29**, 1495.
- [153] Tam, N. F. Y.; Yao, M. W. Y.; *Sci. Total Environ.*, 1998, **216**, 33.
- [154] Koch, K. R.; Pougnet, M. A. B.; de Villiers, S.; *Analyst*, 1989, **114**, 911.
- [155] Koch, K. R.; Pougnet, M. A. B.; De Villiers, S.; Monteagudo, F.; *Nature* (London), 1988, **333**, 122.
- [156] Ingle Jr, J.; Crouch, S. R.; *Spectrochemical Analysis*, Prentice Hall, Englewood Cliffs – New Jersey: 1988, 590p.
- [157] Feldman, C.; *Analytical Chemistry*, 1949, **21**, 1041.
- [158] Venkatasubramanian, R.; Karanjikar, N. P.; *Anal. Lett.*, 1989, **22**, 981.
- [159] Bellato, C. R.; Pasquini, C.; *Analyst*, 1996, **121**, 1923.
- [160] Bellato, C. R.; Rohwedder, J.; Raimundo Jr., I. M.; Pasquini, C.; *J. Autom. Chem.*, 1996, **18**, 7.
- [161] Monning, C. A.; Koirtoyohann, S. R.; *Anal. Chem.* 1985, **57**, 2533.
- [162] Halicz, L.; Brenner, I. B.; *Spectrochim. Acta*, 1987, **42B**, 207.
- [163] Laird, D. A.; Dowdy R. H.; Munter, R. C.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 515.
- [164] M. Jerrow, I. Marr and M. Cresser, *Anal. Proc.*, 1992, **29**, 45.
- [165] Halicz, L.; Brenner, I. B.; Yoffe, O.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 475.
- [166] Saba, C. S.; Rhine, W. E.; Eisentraut, K. J.; *Anal. Chem.*, 1981, **53**, 1099.
- [167] Ambrose, A. J.; Ebdon, L.; Foulkes, M. E.; Jones, P.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1989, **4**, 219.
- [168] Garmestani, K.; Blotcky, A. J.; Rack, E. P.; *Anal. Chem.*, 1978, **50**, 144.
- [169] Fortier, N. E.; Fritz, J. S.; *Talanta*, 1985, **32**, 1047.
- [170] Ohzeki, K.; Uno, T.; Nukatsuka, I.; Ishida, R.; *Analyst*, 1988, **113**, 1545.
- [171] Frech, W.; Baxter, D. C.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 1987, **328**, 400.
- [172] Kupchella, L.; Syty, A.; *J. Agric. Food Chem.*, 1980, **28**, 1035.
- [173] Wang, Y.; Lu, C.; Xiao, Z.; Wang, G.; Kuan, S. S.; Rigsby, E. J.; *J. Agric. Food Chem.*, 1991, **39**, 724.
- [174] Almeida, A. A.; Bastos, M. L.; Cardoso, M. I.; Ferreira M. A.; Lima, J. L. F. C.; Soares, M. E.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 1281.
- [175] Salacinski, H. J.; Riby, P.G.; Haswell, S. J.; *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **269**, 7.
- [176] Motkosky, N.; Kratochvil, B.; *Analyst*, 1993, **118**, 1313.
- [177] Larroque, M.; Cabanis, J. C.; Vian, L.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1994, **77**, 463.
- [178] Ohta, K.; Yokoyama, M.; Itoh, S.; Kaneco, S.; Mizuno, T.; *Anal. Chim. Acta*, 1994, **291**, 115.
- [179] Yang, Q.; Penminckx, W.; Smeyers-Verbeke, J.; *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 1948.
- [180] Oliveira, W. A.; Pasquini, C.; *Anal. Chem.*, 1985, **57**, 2575.
- [181] Skoog, D. A.; Leary, J. J.; *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., Harcourt Brace College Publishers, Orlando – Florida: 1992, 700 p.

- [182] Ingle, J. D.; S. R. Crouch; *Spectrochemical Analysis*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs – New Jersey: 1988, 590 p.
- [183] Analytical Methods Committee; *Analyst*, 1987, 112, 199.
- [184] Zhe-Ming, N.; Xiao-Quan, S., *Spectrochim. Acta*, 1987, 42B, 937.
- [185] Halls, D. J.; *Analyst*, 1984, 109, 1081.
- [186] Quinonero, J.; Mongay, C.; de la Guardia, M.; *Microchem. J.* 1989, 39, 344.
- [187] Styris, D. L.; Redfield, D. A.; *Anal. Chem.*, 1987, 59, 2891.

CAPÍTULO II

Determinação de Selênio em Organismos Marinhos por ETAAS com Atomização em Filamento de Tungstênio.

1. Selênio e Técnicas de análise: Revisão Bibliográfica

1.1. Selênio: ocorrência e importância

O selênio foi descoberto em 1817 pelo químico sueco Jons Jakob Berzelius, e a escolha de seu nome deve-se a uma homenagem à deusa da Lua, Selene [1]. Sua ocorrência na natureza pode estar sob a forma de selenetos metálicos, normalmente acompanhados de sulfetos metálicos, ou como dióxido de selênio nas cinzas provenientes da calcinação de minérios a base de sulfetos [2].

Praticamente todo selênio ingerido pelo homem vêm do alimento [3]. O teor na água varia com o seu teor no solo e pode ser somente de $1 \mu\text{g l}^{-1}$ ou tão elevado quanto $300 \mu\text{g l}^{-1}$ [4]. Apesar dos dados limitados sobre o teor de selênio nos alimentos, sabe-se que diversos fatores influenciam na sua concentração [4]:

- a) A classe dos alimentos: do mar, carnes, rins, e, pelo menos em alguns países, arroz e grãos tendem a apresentar teores relativamente elevado de selênio, geralmente bem acima de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$; as hortaliças e frutas, em média, constituem uma fonte relativamente pobre de selênio, com níveis inferiores a $0,010 \text{ mg kg}^{-1}$.
- b) Origem do alimento, isto é, a composição química e particularmente o teor de selênio do solo em que se desenvolveu.
- c) Processamento do alimento: dados disponíveis indicam que os alimentos mais refinados e processados geralmente contêm menos selênio – o cozimento parece facilitar a eliminação de compostos voláteis de selênio.

O selênio é um nutriente essencial, mas é tóxico quando a ingestão é elevada [3-6]. O interesse sobre o estudo do efeito do selênio nos seres vivos começou primeiramente devido à sua toxicidade [3]. Em 1934 verificou-se que os níveis elevados de selênio em plantas de regiões semi-áridas do oeste norte-americano eram responsáveis por uma moléstia, chamada de “doença alcalina”, que acometeu o gado e outros animais de criação. Esta enfermidade era caracterizada por um certo tipo de paralisia, perda de pêlo e dentes, unhas quebradiças e desprendimento do casco [3]. A toxicidade por selênio pode ainda causar falhas na reprodução, como, por exemplo, a má formação de embriões [3]. Os sinais mais comuns selenose crônica em seres humanos são unhas e cabelos quebradiços, gosto metálico na boca e odor de alho exalado durante a respiração e transpiração [5]. Estes sintomas estão relacionados a uma ingestão diária de 5 mg de selênio para um indivíduo adulto [6].

A importância do selênio na nutrição animal foi descoberta por Schwarz e Foltz [7] em 1957. Eles observaram que a adição de selênio na dieta de ratos com deficiência de vitamina E evitava a necrose do fígado. Em um outro estudo eles verificaram que um certo composto orgânico específico de selênio (Fator 3) possuía atividade metabólica várias vezes mais potente que o selênio inorgânico e outras formas orgânicas conhecidas de selênio [8]. Ao contrário do que se pensava, foi comprovado que o efeito protetor contra a necrose de fígado, antes atribuído somente à L- cisteína, é, na verdade, produzido por um efeito sinérgico entre a L-cisteína e o Fator 3, encontrado presente como contaminante em quantidades muito baixas neste aminoácido [8]. Quando associado à vitamina E, o selênio tem ação protetora quanto a peroxidação lipídica [3].

Embora a importância deste elemento traço na nutrição animal tenha sido revelada em 1957, pouco ainda se sabe sobre o papel específico do selênio no

organismo. As primeiras funções do selênio nos seres humanos só foram explicadas em 1973 [1]. Até os dias de hoje só se conhecem três reações catalisadas por enzimas que exigem a participação de proteínas contendo selênio. Duas destas reações se relacionam com bactérias, uma necessita da enzima desidrogenase e outra da glicina redutase [3]. A terceira é a da glutathione peroxidase (GPx) [3,9,10,11], que previne os glóbulos vermelhos, as membranas celulares e componentes sub-celulares contra reações indesejáveis com peróxidos solúveis. A descoberta da GPx abriu as portas para a compreensão de como o selênio é um agente de proteção contra o câncer, doenças cardíacas e artrite [12].

Em 1994 Taylor *et al.* [13] demonstraram que vários novos genes no HIV codificam proteínas contendo selenocisteína, o que geralmente causa o término da síntese da proteína. Embora nada ainda se tenha comprovado, suspeita-se de que tais genes poderão fornecer a base de um papel para o selênio na bioquímica e regulação do HIV. Assim, alguns autores consideram seriamente a possibilidade de uma correlação entre a progressão do quadro infeccioso de um paciente soro positivo e a diminuição drástica dos níveis de selênio no mesmo indivíduo [12,13].

Informações sobre o metabolismo do selênio são escassas. A absorção de selênio pelo intestino, sua retenção e distribuição variam com a espécie e parece depender da solubilidade do composto de selênio ingerido. Ainda faltam dados sobre seres humanos, porém, sabe-se que a interação entre os compostos de selênio e os grupos sulfidrilas, em particular aqueles presentes na membrana celular, oferece interessantes possibilidades para elucidar o metabolismo do selênio [3]. Isso foi comprovado por meio de um estudo realizado com plantas e microorganismos, que sugere uma competição entre o selênio e o enxofre para o

transporte do elemento através da membrana celular [14]. O selênio absorvido é depositado em quantidades variáveis ao longo de todos os tecidos do corpo, com exceção do tecido adiposo. Os níveis mais elevados são encontrados nos rins, fígado, coração e baço [14].

A deficiência de selênio pode causar distrofia muscular [15], bem como uma redução no crescimento, na produtividade, na reprodução, e pode ser letal para peixes, aves, mamíferos e até para o próprio homem [6]. De acordo com a Organização Mundial de Saúde [4], não é possível especificar as ingestões dietéticas diárias de selênio, entretanto, com base em estudos mais recentes, recomenda-se que a dose diária de selênio para uma pessoa adulta seja de 110 μg [6].

Como é sabido, tanto a deficiência quanto o excesso de selênio nos mamíferos, pode levar a sérios problemas de saúde [5,6]. Por essa razão, surgiu a necessidade de se adquirir informações sobre o conteúdo de selênio nos alimentos e na ingestão diária, principalmente em países onde o peixe, que acumula naturalmente altos níveis de selênio ($\sim \text{mg kg}^{-1}$) [16], é a principal fonte de alimentação ou a base da economia.

1.2. Técnicas de análise empregadas para a determinação de selênio em alimentos

Vários métodos analíticos empregando técnicas instrumentais foram desenvolvidos para a determinação de selênio em alimentos. Sabe-se que, nesse tipo de matriz, o selênio pode ser determinado por voltametria [17,18], polarografia de pulso diferencial [19], ativação neutrônica [20], ICP-AES [21], ICP-MS [22], geração de hidretos [23-25], AFS [23], ou por ETAAS [16,26-29]. Entretanto, ainda não existem metodologias desenvolvidas para a determinação

de selênio empregando-se o filamento de tungstênio como atomizador. Portanto, com relação à técnica de atomização eletrotérmica, só existem relatos na literatura a cerca do emprego do tubo de grafite para esse fim; dentre os quais, alguns trabalhos merecem destaque.

Arruda *et al.* [27] desenvolveram um método de digestão “*on-line*” para a determinação de selênio em organismos marinhos. A amostra, na forma de suspensão e HNO_3 6 mol l^{-1} eram injetados simultaneamente em uma bobina de digestão contida no interior de um forno de microondas operando a 600 W de potência. Após um intervalo de tempo relativamente rápido (4 min), a amostra mineralizada era coletada e transferida para o recipiente do auto-amostrador do instrumento e analisada por ETAAS. Nitrato de paládio foi empregado como modificador químico, o qual permitiu que se trabalhasse em uma temperatura de pirólise de 1100 °C.

García *et al.* [28] trabalharam com suspensões de vários organismos marinhos em meio H_2O_2 – HNO_3 , na presença de nitrato de níquel como modificador químico. Um volume de 20 μl desta suspensão era transferido diretamente para o forno de grafite para que, desta forma, o selênio fosse determinado a 196 nm empregando-se um rápido programa de aquecimento (39 s), omitindo-se a etapa de pirólise.

Januzzi *et al.* [16] analisaram diretamente tecido de peixe por ETAAS na forma de suspensão estabilizada com Triton X-100 e homogeneizada por efeito ultra-sônico. Um volume de 20 μl da suspensão era co-injetado com uma mistura de oxalato de amônio monohidratado e nitrato de paládio. De acordo com os autores, os componentes da mistura funcionariam como agente de seletividade e modificador químico, respectivamente.

1.3. Atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio

A utilização de atomizadores alternativos ao tubo de grafite, de baixo custo operacional tanto para a sua implementação quanto para a sua manutenção, tais como filamentos metálicos, permite ampliar a utilização da espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. Aplica-se aos elementos comumente determinados em superfícies gráficas [30,31], como também para aqueles mais problemáticos de serem determinados nestas superfícies, como terras raras [32,33], e elementos refratários tais como bário [34] e cromo [35]. Por esta razão, atomizadores metálicos vêm sendo empregados como uma alternativa e/ou complemento aos tubos de grafite [36].

As principais vantagens dos atomizadores metálicos são [36]:

- não formação de carbetos;
- tempo de vida útil elevado (300-500 ciclos de aquecimento);
- alta taxa de aquecimento (10-30 K/ms);
- não requerimento de um sistema de refrigeração ²;
- utiliza fonte de alimentação de baixa potência (< 1000 W);
- menor emissão de radiação nas regiões ultravioleta e visível;
- menor gradiente térmico na superfície do atomizador.

Por outro lado, atomizadores metálicos são sensíveis à oxidação, desta forma, o gás de purga utilizado deve conter hidrogênio, o qual produz uma atmosfera redutora, aumentando a eficiência de atomização e o tempo de vida

² para atomizadores metálicos com massa menor que 200 mg (geralmente filamentos metálicos)

útil do atomizador [30,31].

Os metais mais utilizados como atomizadores eletrotérmicos são o molibdênio, a platina, o tântalo e o tungstênio. Dentre estes, verifica-se que o tungstênio é o mais adequado, devido ao seu maior ponto de fusão (3680 K), seu baixo calor específico e sua baixa resistividade elétrica comparada ao carbono. Ainda apresenta uma menor pressão de vapor entre os demais elementos listados acima [36,37], como também uma elevada resistência química, sendo atacado significativamente apenas por misturas de ácido nítrico e fluorídrico ou através de fusão alcalina oxidante [37].

Williams e Piepmeier [38] foram os primeiros a publicarem um artigo no qual utilizavam um filamento de lâmpada de tungstênio como atomizador. Um volume de 3 μl da amostra era depositado sobre um filamento de 24 W e um fluxo de gás inerte de 10 l min^{-1} , no qual executavam-se as etapas de secagem e atomização. Foram estudadas as atomizações de cálcio, crômio, cobre, ferro, magnésio, manganês e estanho com obtenção de baixos limites de detecção.

Em trabalho posterior, Piepmeier e Reid [39] propuseram algumas modificações para a medida dos sinais utilizando o mesmo filamento de 24 W do trabalho precedente. Os sinais foram medidos por área de pico e os valores comparados aos obtidos por altura de pico. A leitura por área de pico compensava as possíveis mudanças na largura do pico, provocadas por concomitantes presentes na amostra, produzindo curvas analíticas lineares. Outra dificuldade era a não existência de sistemas adequados para leitura de rápidos sinais transientes.

Muzgin *et al.* [40] utilizaram um filamento de tungstênio para atomização em espectrometria de absorção atômica e fluorescência atômica. Os autores estudaram o mecanismo de atomização de vários elementos nesse

atomizador em misturas argônio/metano e argônio/hidrogênio como gás de purga. A formação de carbeto estáveis por parte de alguns metais dificultou a dissociação e aumentou os limites de detecção dos mesmos, em uma atmosfera contendo carbono no gás de purga. Para elementos como cobalto, ferro, manganês, níquel, alumínio, berílio estrôncio e silício, os autores obtiveram limites de detecção mais baixos para essa composição de gás. Para metais que formam óxidos refratários e carbeto, foi recomendada a utilização de um gás de purga contendo argônio/hidrogênio.

Em 1988, Berndt e Schaldach [41] projetaram um sistema aberto para operar com filamentos de tungstênio de 150 e 250 W. Resultados preliminares obtidos a partir de soluções contendo apenas o analito mostraram a potencialidade desse atomizador. Em 1990, Havesov *et al.* [42] utilizam o mesmo sistema aberto com o filamento para a determinação de magnésio, cálcio e bário. No mesmo ano, Ivanova *et al.* [43], determinam traços de arsênio, antimônio e estanho em ouro depois de separação da matriz com hidrazina.

Na última década, pesquisas realizadas revelaram que os filamentos de tungstênio de 150W, produzidos originalmente para lâmpadas de projetores de diapositivos, podem ser usados como atomizadores de baixo custo para a determinação de baixas concentrações de elementos, tendo sido propostos procedimentos para a determinação de cádmio em materiais biológicos [30], bário em águas [34], chumbo em sangue [31,44], crômio em águas [35], itérbio em fezes de animais [45], cádmio, cobalto, crômio, manganês, níquel e chumbo em águas [46] e bebidas [47], entre outros [48]. Todos estes trabalhos fazem menção à simplicidade e ao baixo custo desse atomizador.

2. Material e Método

2.1. Instrumentação, Materiais, Reagentes e Amostras

Espectrômetro de absorção atômica Varian modelo SpectrAA 220 equipado com corretor de fundo de lâmpada de deutério; operando em uma resolução espectral de 0,7 nm e comprimento de onda de 196,0 nm.

Um forno com filamento de tungstênio, construído com um tubo de vidro de 10,0 cm de comprimento e 1,9 cm de diâmetro externo e duas entradas laterais que proporcionavam a introdução simétrica do gás de purga (Figura 16a). O filamento de tungstênio (Osram/Alemanha), de comprimento (desenrolado) 8,6 cm e diâmetro de 0,3 mm, foi posicionado em eletrodos de cobre (5,0 cm de comprimento e 0,2 cm de diâmetro) que eram fixados em um cone isolante de cerâmica (Figura 16b). As extremidades laterais do tubo eram vedadas com janelas de quartzo (diâmetro de 2,5 cm). No centro da face superior do tubo de quartzo, um orifício circular permitia a entrada da amostra e o escape do gás de purga. Para o posicionamento desse conjunto no espectrômetro de absorção atômica, o forno com filamento de tungstênio foi fixado sobre uma placa de acrílico. Através de um encaixe adequado, colocou-se esta placa sobre o suporte originalmente utilizado para a sustentação do forno de grafite. Esse encaixe foi feito de maneira que o alinhamento do filamento com respeito ao feixe de radiação incidente fosse realizado com o mecanismo original de alinhamento do próprio instrumento.

O aquecimento do filamento foi feito por uma fonte com controle de tensão [49], que possibilita a programação das etapas de aquecimento, com seleção de tensão de 0,1 a 15,0 V (com incrementos de até 0,05 V) e duração de cada etapa de no mínimo 0,5 s. Através da re-alimentação de um circuito

eletrônico com a tensão real resultante no filamento de tungstênio, a fonte garantia que a diferença de potencial aplicada permanecesse constante, independentemente de variações no valor da resistência do filamento de tungstênio.

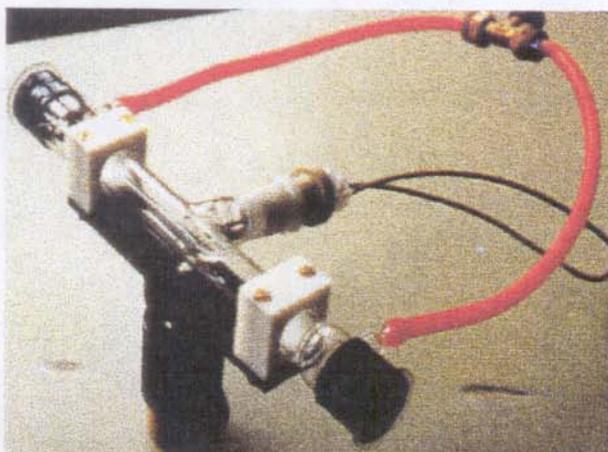


Figura 16a. Forno de filamento de tungstênio



Figura 16b. Filamento de tungstênio

A mistura gasosa Ar/H₂ 9:1 foi empregada como gás de arraste. Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. Ácido nítrico (Merck) subdestilado em um destilador de quartzo Kürner (Rosenheim, Alemanha), e água destilada / desionizada, obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA), foram usados no preparo das soluções.

Empregou-se o mesmo forno de microondas, descrito no capítulo 1, para mineralização das amostras sob altas pressões.

A solução estoque de selênio 1000 mg l⁻¹ foi preparada a partir do Na₂SeO₄ (Merck, Darmstadt, Alemanha), dissolvendo-se 2,3929 g do sal em 1 litro.

As soluções analíticas de referência de Se (0, 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 300 µg l⁻¹) foram preparadas em ácido nítrico 0,2 % v/v a partir de diluições seriais de uma solução estoque de selênio 1000 mg l⁻¹ (Na₂SeO₄ – Merck, Darmstadt, Alemanha).

As seguintes substâncias $Mg(NO_3)_2$ (Merck, Darmstadt, Alemanha), V_2O_5 (Merck), $Cu(NO_3)_2$ (Merck), $Ni(NO_3)_2$ (Merck), $Pd(NO_3)_2$ (Merck) e $(NH_4)_3RhCl_6 \cdot 1,5 H_2O$ (Johnson Matthey, Royston, UK) foram testadas como modificador químico em diferentes concentrações.

Investigou-se o efeito dos concomitantes com soluções de até 1000 mg l^{-1} de: Na^+ ($NaNO_3$, Johnson Matthey, Royston, UK), K^+ (KNO_3 , Johnson Matthey), Ca^{2+} ($CaCO_3$, Johnson Matthey), Zn^{2+} (ZnO , Suprapur Merck), Fe^{3+} (Fe , Suprapur Merck), Cl^- (NH_4Cl , Merck), PO_4^{3-} ($NH_4H_2PO_4$, Suprapur Merck) e de SO_4^{2-} ($(NH_4)_2SO_4$, Suprapur Merck).

Com o objetivo de reter possíveis espécies interferentes, empregou-se um sistema de fluxo de linha única (Figura 17) para o tratamento da amostra digerida. Este sistema consistia de uma bomba peristáltica Ismatec equipada com um tubo de Tygon (2,0 mm d.i.) para transmissão de fluidos, 10 cm de tubos de Teflon[®] (0,8 mm d.i.) e uma coluna de acrílico (20 mm × 3 mm d.i.) que acomodava aproximadamente 56 mg de resina seca (AG-50).

Amostras de mexilhão e de peixes (corimbatã e merluza) foram compradas em supermercado, na cidade de Campinas-SP. Para validar o método proposto, analisou-se também os seguintes materiais de referência: Cod muscle N° 422 (BCR), Mussel (CRM – NIES), Fish flesh homogenate MA-A-2 N° 454 (SRM – IAEA) e Oyster Tissue (1566a, SRM – NIST).

Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno (*Nalgene*). Os frascos plásticos, vidrarias e demais utensílios de laboratório foram descontaminados através de imersão em HNO_3 20 % v/v por 24 h. Depois, o material foi lavado 5 vezes com água Milli-Q e, em seguida, seco em uma capela de fluxo laminar Classe 100.

2.2. Preparo e análise das amostras

A mineralização das amostras foi obtida através da decomposição em forno de microondas. Esta técnica de preparo de amostra, em especial quando realizado em sistemas fechados, tem sido um atrativo por abreviar significativamente o tempo de digestão da amostra (em geral < 1 h), empregar reduzido volume de ácido e prevenir a perda por volatilização de alguns elementos. Devido a isso, alguns autores têm recorrido a essa técnica para digerir organismos marinhos com o propósito de se determinar selênio [26,27,51].

A análise de cada amostra foi realizada por triplicata. As amostras com massas da ordem de 0,5 g foram quantitativamente pesadas e transferidas para frascos de Teflon[®] juntamente com adição de 5 ml de ácido nítrico. Os frascos foram selados e colocados no interior do forno de microondas e submetidas a um programa de aquecimento, recomendado pelo próprio fabricante, para a decomposição desse tipo de matriz (Tabela 8). Após 25 min de ataque ácido, as frascos foram resfriados em temperatura ambiente por cerca de 90 min. e, em seguida, abertas. As amostras foram evaporadas até quase secura e depois resfriadas à temperatura ambiente. Transferiu-se quantitativamente o material digerido para balões volumétricos de 25 ml, ajustando-se a acidez final para HNO₃ 0,2 % v/v.

Tabela 8. Programa de aquecimento do forno de microondas para decomposição das amostras de organismos marinhos.

Etapa	Potência (W)	Rampa (min)	Patamar (min)	Temperatura limite (°C)	Pressão limite (psi)
1	800	10:00	15:00	190	350

Antes da análise, as soluções resultantes foram tratadas com a resina de troca iônica AG-50, conforme descrito a seguir: cada amostra foi introduzida no sistema de fluxo, propulsionado por uma bomba peristáltica Ismatec a uma vazão de $1,0 \text{ ml min}^{-1}$, de modo a passar através da coluna recheada com a resina AG-50 (Figura 17). Após 2 min de tratamento, a amostra era coletada diretamente no recipiente do auto-amostrador e, então, levada para uma posição pré-determinada na bandeja do espectrômetro de absorção atômica. O sistema de fluxo era lavado durante 1 min com ácido nítrico $3,0 \text{ mol l}^{-1}$ seguido por mais 1 min com água desionizada para eliminar os riscos de contaminação. Isso era feito no intervalo de troca das amostras.

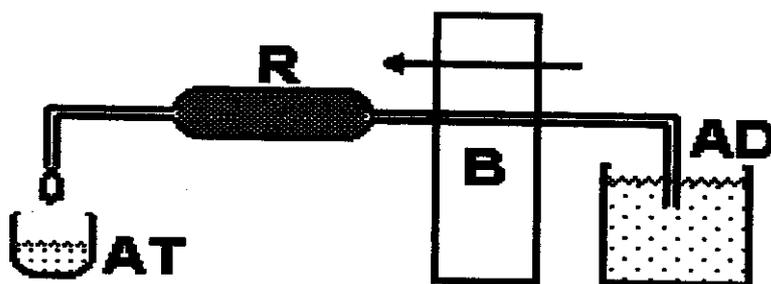


Figura 17. Sistema de fluxo para a separação das espécies potencialmente interferentes dos íons selenato; AT: Amostra tratada; R: resina AG-50; B: bomba peristáltica; AD: Amostra digerida.

A amostra, após tratada pela resina, era analisada por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio (TCAAS). Aliquotas de $20 \mu\text{l}$ de amostra e $5 \mu\text{l}$ de uma mistura de magnésio ($0,08 \text{ \% m/v}$) + ródio ($0,16\% \text{ m/v}$) atuando como modificador químico eram introduzidos sequencialmente sobre a superfície de tungstênio. Após a introdução da amostra, utilizou-se o programa de aquecimento da Tabela 9 para todas as análises. Todas as medidas foram obtidas, no mínimo, em triplicata e

tomadas em altura de pico. A curva de calibração foi construída mediante soluções analíticas de referência.

Todo o procedimento realizado neste item foi repetido de maneira idêntica para os brancos.

Tabela 9. Programa de aquecimento do filamento de tungstênio para o método proposto.

Diferença de Potencial (V)	Tempo (s)
0,7	10
0,6	20
0,5	20
1,2	10
13,0	1

3. Resultados e Discussão

Empregou-se uma solução analítica de referência de selênio $100 \mu\text{g l}^{-1}$ para a realização dos estudos relacionados ao volume introduzido de amostra, otimização do programa de aquecimento e seletividade do método. Os materiais certificados Oyster Tissue and Fish Flesh Homogenate foram utilizados no ajuste mais apurado da etapa de pirólise durante a análise desses materiais. Esta etapa influenciou diretamente na exatidão do método.

3.1. Volume Introduzido de Amostra

Testou-se a introdução de três diferentes alíquotas (5, 10 e 15 μl) de solução padrão de selênio $100 \mu\text{g l}^{-1}$, co-injetados com 5 μl de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,1 % m/v como modificador químico. Cada alíquota de solução contendo selênio foi

medida em quintuplicata. As médias e desvios padrão relativos (rsd) para cada volume introduzido são mostrados na Tabela 10. Como se pode observar, não é aconselhável trabalhar com 5 µl por causa do alto desvio padrão alcançado (>10%). Este resultado deve-se, provavelmente, ao pequeno volume amostrado, o que se reflete em uma precisão indesejada. Ao contrário, se o volume amostrado for aumentado, pode-se melhorar a sensibilidade, bem como se obter desvios aceitáveis (<1,7%). Nesse aspecto, convém se trabalhar com volumes de amostra ≥ 10 µl.

Tabela 10. Efeito do volume introduzido de amostra na sensibilidade e precisão do método.

Volume (µl)	Abs.	rsd (%)
5	0,0314	13,4
10	0,0684	1,7
15	0,1101	1,4

3.2. Otimização do Programa de Aquecimento do Filamento de Tungstênio

Após definir o volume introduzido de amostra, desenvolveu-se o programa de aquecimento mostrado na Tabela 9. Da mesma forma que na análise em forno de grafite, o programa de aquecimento é dividido em três etapas distintas: secagem, pirólise e atomização da amostra.

3.2.1 Secagem

Definiu-se a etapa de secagem aplicando-se a seguinte sequência de diferença de potencial ao filamento: 0,7 V (10 s), 0,6 V (20 s) e 0,5 V (20 s), não

se observando perdas da amostra por respingos. A secagem completa da amostra foi comprovada pelo “teste do espelho”: nos segundos finais desta etapa, aproxima-se um pequeno espelho do orifício no qual a amostra é introduzida, observando a ocorrência de condensação de vapor proveniente do interior do forno. Caso isso não aconteça, significa que a amostra foi totalmente seca.

3.2.2. Pirólise

A etapa seguinte a ser avaliada é a pirólise. Esta é realizada entre as etapas de secagem e atomização, consistindo na possibilidade de minimizar os efeitos de matriz devido à eliminação total ou parcial dos concomitantes [53]. Uma alternativa viável para manter o selênio termicamente estabilizado em uma temperatura mais elevada é o emprego de modificadores químicos, proposto por Ediger [54] em 1975. O modificador químico atua diminuindo os efeitos de matriz, permitindo a determinação do analito desejado em amostras reais. Nesse sentido, construiu-se curvas de pirólise na ausência ou presença de vários modificadores químicos, com o objetivo de se encontrar uma substância (ou mistura delas) que fosse capaz de modificar favoravelmente a matriz, viabilizando a determinação de selênio nas amostras. Visto que não existem relatos na literatura sobre a atomização de selênio, com ou sem modificadores químicos, em filamento de tungstênio, tomou-se como ponto de partida, publicações de vários autores, nas quais os modificadores químicos mais comumente empregados para a determinação de selênio por ETAAS em tubo de grafite são o Pd [16,27,55,56], Ni [23,28,29,56], V [57], Cu [56,58], Mg [56,59,60] ou Rh [61,62]. Desta forma, diversas soluções desses metais foram testadas, avaliando seus desempenhos como modificador de matriz em várias temperaturas de pirólise.

Curvas de pirólise, na ausência ou presença de modificador químico, foram obtidas fixando-se as condições de secagem e atomização da Tabela 9, bem como o tempo de pirólise em 10 s. A diferença de potencial foi aumentada potencial com incrementos $\leq 0,1$ V, até que se observasse uma queda significativa no sinal analítico. A partir deste ponto, a construção da curva foi concluída com incrementos maiores. Com base na Figuras 18a e 18b, nota-se que, na ausência de modificador químico, por ser relativamente volátil, o selênio é perdido, por mais baixa que seja a diferença de potencial aplicada durante a pirólise da amostra.

Eram introduzidos 5 μ l de cada modificador juntamente com 15 μ l de uma solução 100 μ g.l⁻¹ Se. Os modificadores foram estudados em concentrações que variaram de 0,02 a 0,10 % m/v, o que corresponde a massas de 1,0 a 5,0 μ g do modificador, assumindo a introdução de um volume de 5 μ l. As curvas de pirólise para selênio na presença do modificador foram obtidas de maneira idêntica, isto é, nas mesmas condições daquela obtida somente com selênio. As figuras 18a e 18b comparam a estabilização térmica do selênio na ausência e na presença de vários modificadores químicos. Para cada modificador estudado, mostra-se apenas uma curva, referente à massa do modificador que resultou no seu melhor desempenho. Percebe-se que ródio e magnésio apresentaram os melhores resultados como modificadores químicos, tanto no tocante ao ganho de sensibilidade como em uma maior estabilização térmica do selênio. Ao se trabalhar com amostras reais, o modificador escolhido foi uma mistura de ródio e magnésio, visto que ambos não foram eficientes quando empregados individualmente na análise de amostras reais. Esses resultados serão mostrados e discutidos no item 3.3.

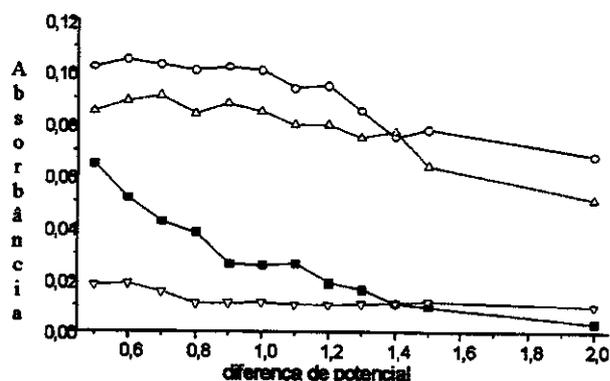


Fig. 18a - Curva de pirólise de 1,5 ng de Se na ausência e presença de modificadores químicos:
 ○ 1,5 ng Se + 4 µg Cu △ 1,5 ng Se + 4 µg Ni
 ▽ 1,5 ng Se + 1 µg Pd ■ 1,5 ng Se

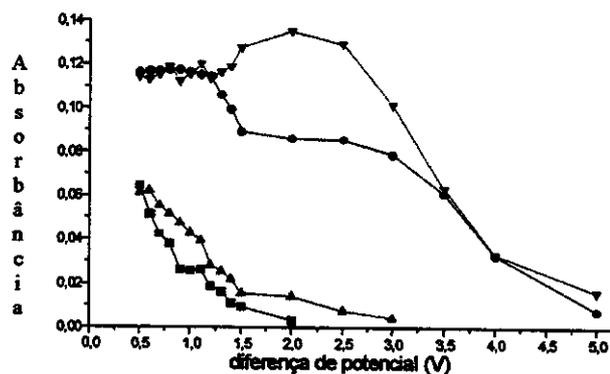


Fig. 18b - Curva de pirólise de 1,5 ng de Se na ausência e presença de modificadores químicos:
 ▽ 1,5 ng Se + 5 µg Rh ● 1,5 ng Se + 5 µg Mg
 △ 1,5 ng Se + 1 µg V ■ 1,5 ng Se

3.2.3. Atomização

Na intenção de se buscar melhor sensibilidade para o método, a etapa de atomização foi avaliada em dois parâmetros: temperatura e tempo. Por questões práticas, a etapa de pirólise do programa de aquecimento (Tabela 9) e o uso de modificadores químicos foram suprimidos, haja vista a ausência de concomitantes nos 15 µl de solução analítica de selênio empregada.

Investigou-se a diferença de potencial mantendo-se constante a etapa de secagem (Tabela 9), passando direto para a atomização do selênio durante um intervalo fixo de 2 s. Variou-se a diferença de potencial de atomização de 8 a 15 V com incrementos de 1 V. Os resultados mostraram que a partir de 12 V conseguiu-se um máximo de sensibilidade, como é ilustrado na Figura 20. Por segurança, optou-se em trabalhar com diferença de potencial de 13,0 V, durante a etapa de atomização.

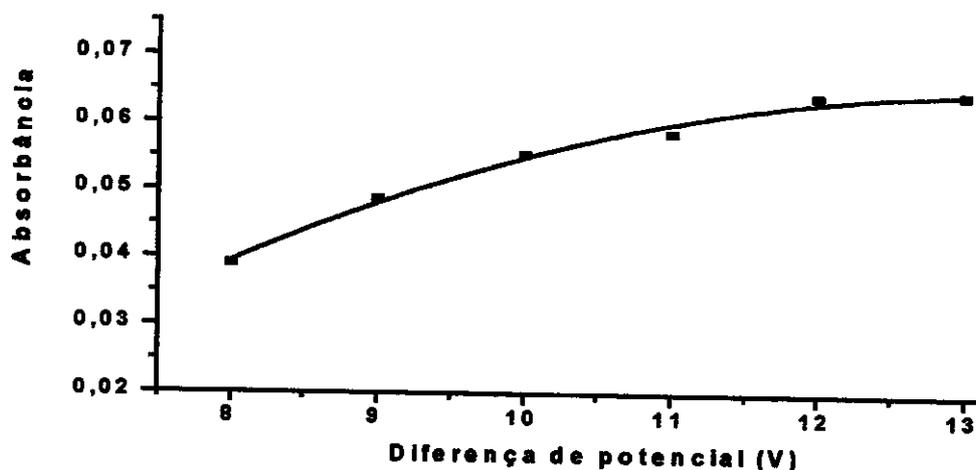


Figura 19. Efeito da diferença de potencial de atomização de 1,5 ng de selênio durante 2 s.

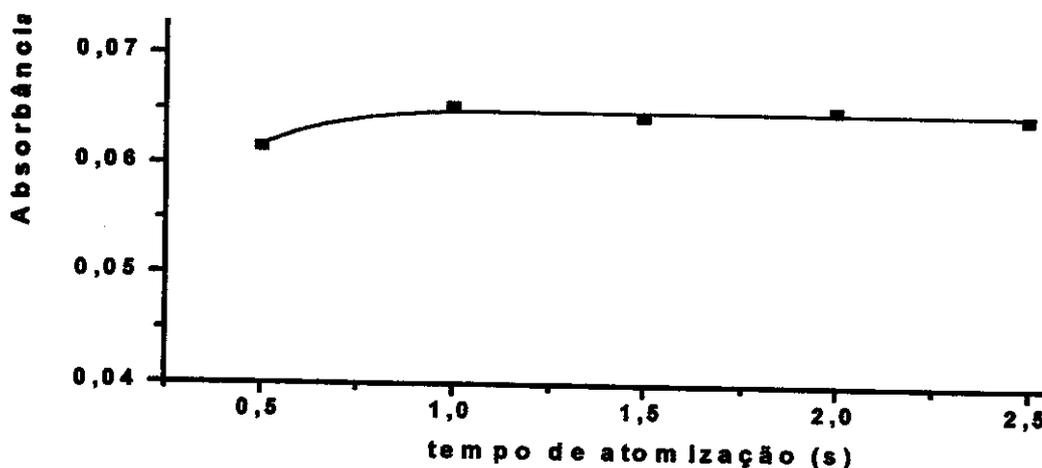


Figura 20. Efeito do tempo na atomização de 1,5 ng de selênio. Diferença de potencial de atomização: 13,0 V.

O tempo mínimo necessário para atomizar todo o selênio a 13,0 V foi determinado variando-se o tempo de 0,5 s a 2,5 s com incrementos de 0,5 s. A mesma etapa de secagem da Tabela 9 foi mantida. Observou-se que 1 s era tempo suficiente para a atomização completa do analito (Figura 20).

3.3. Seletividade

3.3.1. Modificadores químicos

Um dos mais severos problemas da utilização de atomizadores eletrotérmicos é o alto nível de interferência causadas por concomitantes.

Segundo Van Loon [63], a atomização eletrotérmica com filamento de tungstênio, em geral, seria mais sujeita a efeitos de matriz do que os fornos de grafite. West *et al.* [64] recomendaram uma completa destruição da matéria orgânica antes da deposição da amostra no atomizador metálico, como sendo uma forma de amenizar o efeito dos concomitantes, vindo a ratificar a afirmativa de Van Loon [63]. Por causa disso, realizou-se um estudo mais detalhado com respeito às interferências das espécies majoritárias encontradas em organismos marinhos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}) na atomização do selênio.

Em primeiro lugar, com base no desempenho do ródio na estabilização do selênio (Figura 18b), adotou-se 5 μg deste elemento como modificador químico e 2,0 V de diferença de potencial aplicada ao filamento de tungstênio durante a etapa de pirólise, mantendo-se fixas as etapas de secagem e atomização da Tabela 9. Cada concomitante foi preparado individualmente em HNO_3 0,2 % v/v + Se 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ nas seguintes concentrações: 0, 10, 50, 100, 250, 500 e 1000 mg l^{-1} . Como 15 μl da solução do concomitante eram depositados sobre a superfície do filamento de tungstênio, as massas dos concomitantes correspondentes a cada concentração estudada foram de 0; 150; 750; 1500; 3750; 7500 e 15000 ng, respectivamente, contra uma massa de selênio de 1,5 ng. O efeito dessas espécies na atomização de 1,5 ng de selênio em presença de 5 μg de ródio como modificador são mostrados na Tabela 11. Os resultados estão apresentados como a relação do sinal analítico de selênio obtido na presença do concomitante dividido pelo sinal analítico obtido na ausência do mesmo. Consideram-se sérias interferências quando esta relação foi $> \pm 10\%$. Nestas condições operacionais, a Tabela 11 dá uma indicação da ausência de interferência de Cl^- até 15000 ng, K^+ e SO_4^{2-} até 7500 ng e severas interferências de Ca^{2+} e PO_4^{3-} a partir de 150 ng.

Tabela 11. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de 5 µg de Rh como modificador químico.

Massa do concomitante ng	Resposta normalizada					
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻
150	0,99	0,98	0,36	1,00	0,60	1,00
750	0,95	0,96	0,23	1,04	0,31	1,01
1500	0,91	0,96	0,18	1,01	0,19	0,99
3750	0,84	0,95	0,10	0,96	0,08	0,98
7500	0,83	1,01	0,06	0,97	0,06	0,96
15000	0,69	0,81	0,02	0,99	0,03	0,85

Na intenção de se buscar melhor seletividade para o método, repetiu-se o mesmo experimento, substituindo-se, porém, o ródio pelo magnésio, e empregando a melhor condição de pirólise usando o magnésio como modificador, ou seja, 1,1 V durante 10 s. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 12, onde se observa a ausência de interferência de Cl⁻ até 15000 ng, interferência de Ca²⁺ e PO₄³⁻ após 1500 ng, e severas interferências de Na⁺, K⁺ e SO₄²⁻ a partir de 150 ng.

Tabela 12. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de 5 µg de Mg como modificador químico.

Massa do concomitante ng	Resposta normalizada					
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻
150	0,43	0,47	1,03	1,00	1,03	0,37
750	0,18	0,34	0,98	1,03	0,98	0,34
1500	0,08	0,15	0,90	1,02	0,91	0,25
3750	0,04	0,00	0,67	1,00	0,52	0,16
7500	0,00	0,00	0,64	0,98	0,42	0,03
15000	0,00	0,00	0,54	1,00	0,21	0,00

É interessante notar que as espécies causadoras de interferências mais severas, quando se empregou ródio como modificador químico (Ca^{2+} e PO_4^{3-}), interferiram menos acentuadamente, ao se usar magnésio como modificador. Por outro lado, o efeito da interferência de Na^+ , K^+ e SO_4^{2-} na presença de magnésio foi mais intenso do que na presença de ródio; enquanto o Cl^- não interferiu no sinal analítico, em ambos os casos.

Por causa deste comportamento antagônico dos concomitantes (com exceção do Cl^-) propôs-se um novo modificador químico, constituído pela mescla (Rh+Mg). Depois de testar diferentes composições da mescla, os melhores resultados foram obtidos com (8 μg Rh + 4 μg Mg). Mantendo-se inalterada as condições de secagem e atomização da Tabela 9, verificou-se que este modificador conseguiu estabilizar termicamente o selênio sobre a superfície do filamento de tungstênio até uma diferença de potencial de 2,0 V na etapa de pirólise (Figura 21). Durante este estudo, aproveitou-se, também, para verificar o efeito da interferência de Fe^{3+} e Zn^{2+} , juntamente com os demais concomitantes, no sinal analítico de 1,0 ng de selênio. No geral, a seletividade do selênio,

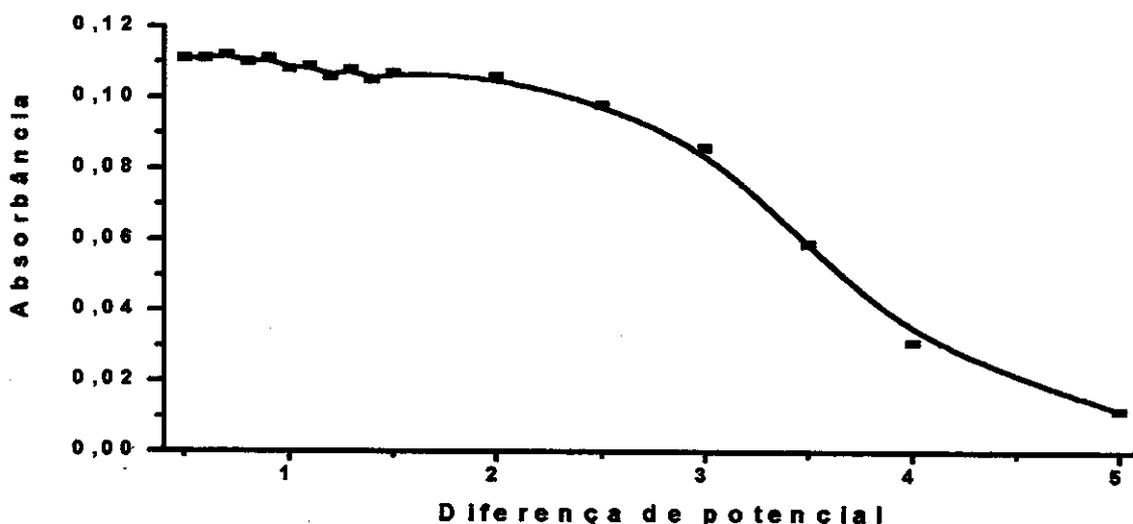


Figura 21. Curva de pirólise para 1,0 ng de Se na presença de (8 μg Rh + 4 μg Mg) como modificador químico

na presença dos concomitantes individuais, foi aumentada (Tabela 13), se comparada com os resultados obtidos nas Tabelas 11 e 12. Entretanto, estes resultados ainda não foram satisfatórios para serem aplicados a uma amostra real: Na^+ , K^+ e Ca^{2+} foram tolerados até 500 ng; Fe^{3+} até 750 ng; Zn^{2+} e PO_4^{3-} até 1000 ng; SO_4^{2-} até 2500 ng e Cl^- até 10000 ng. Convém esclarecer que Fe^{3+} e Zn^{2+} não foram testados para massas acima de 1500 ng porque não ocorrem nesses níveis em organismos marinhos.

Tabela 13. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de (8 µg Rh + 4 µg Mg) como modificador químico.

Massa do concomitante ng	Resposta normalizada							
	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Fe^{3+}	Zn^{2+}	Cl^-	SO_4^{2-}	PO_4^{3-}
15	1,02	0,93	0,97	1,02	1,01	1,02	0,98	0,97
150	0,94	1,01	0,96	0,98	1,03	1,01	0,95	1,04
500	0,92	0,91	0,93	1,05	0,95	0,97	0,99	1,01
750	0,88	0,78	0,85	0,91	0,98	0,99	0,97	0,95
1500	0,66	0,56	0,72	0,77	0,94	1,03	0,94	0,91
2500	0,34	0,24	0,41	–	–	0,99	0,92	0,68
5000	0,11	0,11	0,24	–	–	1,04	0,85	0,18
10000	0,09	0,02	0,10	–	–	0,96	0,59	0,02

3.3.2. Resina de troca iônica

O processo de troca iônica foi descrito pela primeira vez a cerca de 150 anos [65]. A partir de então, as investigações se estenderam-se desde os sílico-aluminatos empregados para este fim até as resinas sintéticas mais modernas [66].

Os sistemas de fluxo que utilizam troca iônica podem ser classificados em três tipos, dependendo, de acordo com a sua aplicabilidade:

- sistemas utilizados para efetuar separação e pré-concentração, onde os interferentes são eliminados e os analitos pré-concentrados, resultando em aumento de sensibilidade [67],
- sistemas onde é realizada a pré-concentração e a detecção feita *in situ*, na coluna (sensor ótico em fase sólida) [68],
- sistemas utilizados estritamente para a separação de interferentes, a fim de garantir aumento de seletividade [68].

Este último tipo de sistema de fluxo serviu como uma ferramenta chave no desenvolvimento do método. Conforme discutido no item anterior, as interferências mais sérias foram atribuídas às espécies Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Fe^{3+} , isto é, cátions. Uma alternativa prática para a separação entre o selênio e estas espécies foi o tratamento das amostras pelo sistema de fluxo contendo a resina AG-50 (descrito no item 2.2. e ilustrado na Figura 17). Isto é possível porque a AG-50 é uma resina de troca catiônica. Assim, a resina retém Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Fe^{3+} liberando o mesmo número correspondente de prótons [65]. Ao contrário, os íons selenato passam livremente através da resina e a amostra tratada é coletada, estando pronta para a análise.

Repetiu-se, então, o mesmo teste com os concomitantes individuais empregando a mescla (8 μg Rh + 4 μg Mg) como modificador químico, tratando-se, porém, previamente cada solução (Se + concomitante) com a resina AG-50 do sistema de fluxo da Figura 17. Também foi observado que não ocorreram variações no perfil da curva de pirólise (Figura 21) e nem no sinal das soluções analíticas de referência de selênio quando estes eram tratados pela resina. Como se pode observar na Tabela 14, o processo de separação contribuiu para que a seletividade do método fosse aumentada significativamente, se

comparado com os valores da Tabela 13, tomando possível a aplicação do método a amostras reais.

Tabela 14. Efeito dos concomitantes individuais na atomização de 1,5 ng de Se na presença de (8 µg Rh + 4 µg Mg) como modificador químico, após tratamento prévio com a resina AG-50.

Massa do concomitante ng	Resposta normalizada							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Fe ³⁺	Zn ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
15	1,01	0,98	0,97	0,99	0,98	0,99	1,00	0,98
150	0,98	1,04	1,01	1,00	1,02	1,02	1,02	1,03
500	1,04	1,01	0,98	1,01	0,98	1,01	0,98	1,00
750	1,01	0,98	0,97	0,99	1,01	1,05	1,05	0,99
1500	0,96	1,00	1,03	0,98	1,03	1,02	0,97	0,94
2500	0,97	1,01	1,03	–	–	1,02	1,03	0,76
5000	1,04	0,99	0,96	–	–	0,99	0,82	0,21
10000	1,03	1,03	0,98	–	–	1,01	0,62	0,05

4. Figuras de Mérito

Os materiais certificados Oyster Tissue e Fish Homogenate foram analisados em 10 diferentes condições de pirólise. Para cada uma das 10 análises construiu-se uma curva de calibração. Estes testes indicaram que, apesar de se ter sido estabelecido 2,0 V como a máxima diferença de potencial de pirólise, que poderia estabilizar termicamente o selênio no filamento de tungstênio sem que houvesse um decréscimo de sinal para as soluções analíticas de referência de selênio, uma investigação mais detalhada em amostras certificadas indicou que essa condição poderia comprometer a exatidão na análise de Oyster Tissue, como pode ser notado na Tabela 15. Portanto, para garantir a boa exatidão do método, tornou-se imperativo analisar todas as amostras com uma etapa de pirólise de 1,2 V durante 10 s, isto é, seguindo o programa de aquecimento da Tabela 9.

Tabela 15. Efeito da diferença de potencial (d.d.p.) de pirólise na exatidão do método.

d.d.p. (V)	Oyster Tissue *		Fish Homogenated §	
	Se ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Se ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
(°C)	Encontrado (n=3)	(%)	Encontrado (n=3)	(%)
0,8	2,04 ± 0,08	92,2	2,06 ± 0,10	121,4
1,0	2,03 ± 0,08	92,1	1,75 ± 0,04	102,7
1,2	2,20 ± 0,09	99,4	1,67 ± 0,06	97,6
1,4	1,96 ± 0,09	88,5	1,83 ± 0,04	107,6
1,6	1,72 ± 0,07	77,7	1,56 ± 0,05	92,0
1,8	1,67 ± 0,08	75,7	1,75 ± 0,05	102,2
2,0	1,64 ± 0,07	74,2	1,81 ± 0,06	106,0
2,2	1,68 ± 0,06	76,0	1,75 ± 0,07	102,2
2,4	1,78 ± 0,07	80,7	1,80 ± 0,05	105,4
2,6	1,81 ± 0,08	81,9	1,75 ± 0,04	102,2

Valores certificados para selênio:

* *Oyster Tissue*: $2,21 \pm 0,24 \mu\text{g.g}^{-1}$

§ *Fish flesh homogenate*: $1,70 \pm 0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$

Aplicando-se o teste *t*, não houve diferença significativa, no intervalo de 95 % de confiança, entre os resultados encontrados pelo método proposto e os valores certificados ou recomendados dos materiais de referência, o qual é uma boa indicação da exatidão do método.

Obteve-se uma faixa linear ($y = -0.00131 + 0,11422 x$; $r > 0.998$; $n = 7$) para até 2,5 ng de selênio (Figura 22), com uma precisão de 4,8% em termos de repetibilidade (n=15) e de 10,4% quanto à reprodutibilidade (n=5). O limite de detecção foi estimado em 41 pg, a partir de 20 medidas consecutivas do branco, de acordo com as recomendações da IUPAC [69]. A massa característica foi 45 pg, calculada com base na leitura do sinal analítico de uma alíquota de 10 μl de solução padrão de selênio $100 \mu\text{g l}^{-1}$.

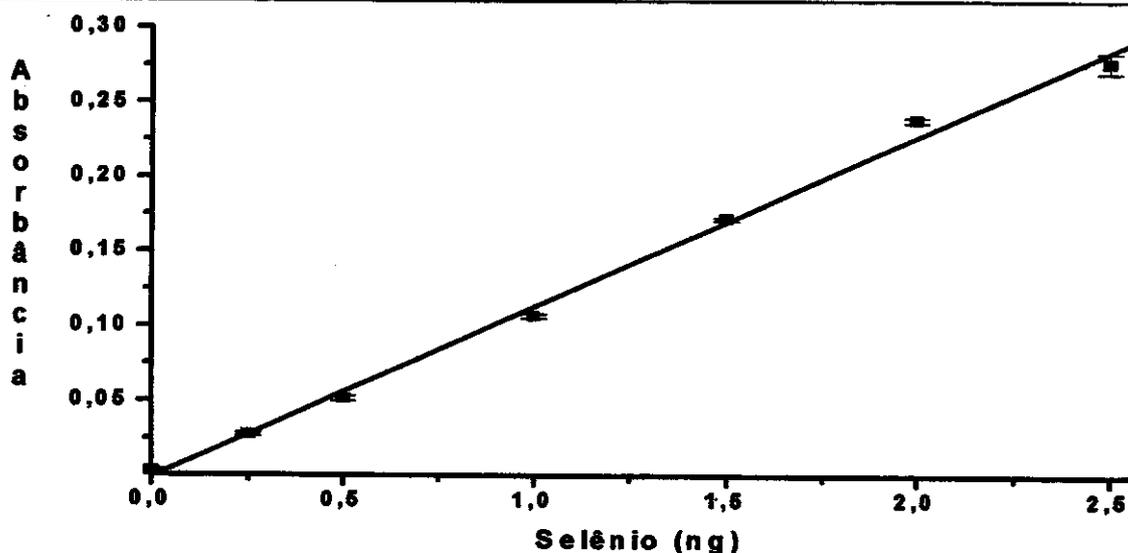


Figura 22. Curva analítica de calibração construída com soluções analíticas de referência de selênio na presença de (8 $\mu\text{g Rh} + 4 \mu\text{g Mg}$) como modificador químico ($n = 3$).

5. Determinação de Selênio em Organismos Marinhos

As amostras e materiais certificados foram digeridos em forno de microondas e submetidas ao tratamento com a resina catiônica (item 2.2.) para, em seguida, serem analisadas por TCAAS, empregando-se a mistura (8 $\mu\text{g Rh} + 4 \mu\text{g Mg}$) como modificador químico e o programa de aquecimento da Tabela 9. O resultado das análises é mostrado na Tabela 16. Os perfis dos sinais analíticos do selênio em uma amostra e em uma solução analítica de referência, obtidos com o programa de aquecimento da Tabela 9, são ilustrados nas Figuras 23a. e 23b.

Tabela 16. Determinação de selênio em organismos marinhos pelo método proposto.

Amostra	Selênio ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Mussel	$1,62 \pm 0,04$
Fish Flesh Homogenate	$1,64 \pm 0,05$
Oyster Tissue	$2,16 \pm 0,07$
Cod muscle	$1,67 \pm 0,05$
Merluza	$0,58 \pm 0,05$
Corimatã	$1,28 \pm 0,07$

Valores certificados para selênio:

Cod muscle: $1,63 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$

Mussel : $1,65 \pm 0,24 \mu\text{g.g}^{-1}$

Fish flesh homogenate: $1,70 \pm 0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$

Oyster Tissue: $2,21 \pm 0,24 \mu\text{g.g}^{-1}$.

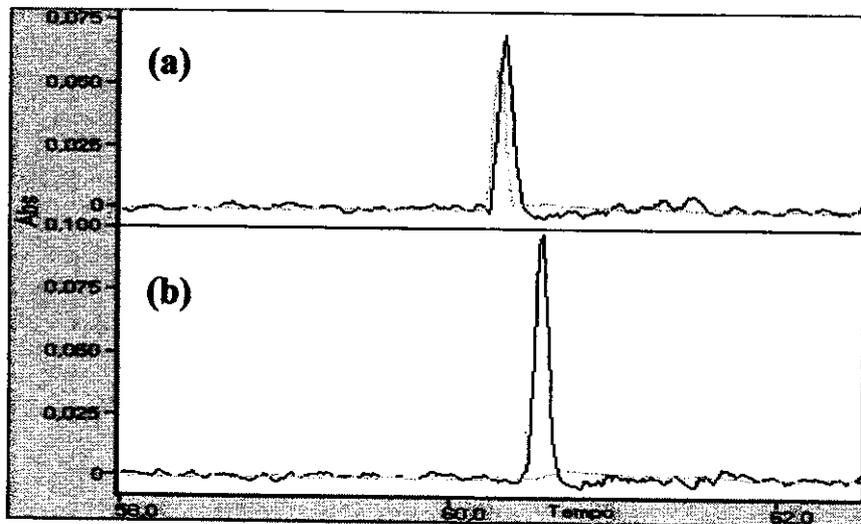


Figura 23. Perfil do sinal analítico do selênio em (a) 20 μl de Oyster Tissue (0,5000 g/25 ml, e (b) 10 μl de solução padrão de selênio 100 $\mu\text{g l}^{-1}$.

6. Conclusão do Capítulo II

O interesse no desenvolvimento de métodos analíticos em atomizadores de filamento de tungstênio se deve principalmente pelo baixo custo de implantação, operação, manutenção, simplicidade na construção e boa sensibilidade, tanto para diversos elementos usualmente determinados empregando o forno de grafite, como também para aqueles com tendências a formarem carbetos refratários.

O selênio foi determinado em amostras de organismos marinhos por TCAAS mediante uma separação prévia dos concomitantes potencialmente interferentes do analito.

As espécies que mais interferiram no método foram os íons Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Fe^{3+} . A possibilidade de melhoria em seletividade do método se deveu à introdução de uma resina catiônica (AG-50), na qual a amostra era conduzida por meio de um sistema de fluxo e passava pela resina. Visto que estas espécies são cátions, e que o selênio está na forma aniônica (selenato), o selênio é separado da matriz e os interferentes são retidos pela resina trocadora. A técnica empregada para separar analito e matriz tem um papel importante no método, que reflete em resultados analíticos de qualidade, enquanto ainda não se tem descoberto compostos que atuem de um modo mais eficiente como modificadores químicos em superfície de tungstênio.

CONCLUSÃO DA TESE

Três técnicas espectroscópicas foram usadas com êxito para desenvolvimento de novos métodos analíticos para a determinação de alumínio e selênio em amostras de interesse alimentício e/ou ambiental.

Ao se resgatar a espectrografia, mostrou-se que, embora seu emprego não se apresente tão efetivo nos dias de hoje, ela ainda pode ser útil, principalmente se acoplada a outras técnicas como FIA e também à amostragem de suspensões, em especial no caso da determinação de alumínio em sedimentos – um elemento refratário que geralmente requer condições mais drásticas para sua atomização e a matriz ser de difícil dissolução.

A amostragem de suspensões também apresentou boa eficiência na determinação direta de alumínio em chá e café por ETAAS. Foi possível obter-se resultados de qualidade aliado à redução do pré-tratamento da amostra, tornando a análise mais rápida do que em métodos convencionais, que optam por uma digestão completa da amostra.

A técnica de atomização em filamento de tungstênio demonstrou qualidade nos resultados das análises comparável a outros métodos estabelecidos em forno de grafite. Para isso, a introdução de uma etapa prévia no sentido de remover uma parte significativa dos concomitantes foi adequada no sentido de controlar os níveis de interferências do método proposto. Entretanto, é importante mencionar que ainda pouco ou quase nada se sabe sobre o uso de modificadores químicos em TCAAS, e que o surgimento de novos modificadores e a compreensão de suas vias de atomização poderão tornar a técnica ainda mais promissora.

7. Bibliografia

- [1] Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Ganther, H. E.; Swanson, A. B.; Hafeman, D. G.; Hoekstra, W. G.; *Science*, 1973, **179**, 588
- [2] Douglas, B.; McDaniel, D.; Alexander, J.; *Concepts and Models of Inorganic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1994, 928p.
- [3] de Oliveira, J. E. D.; Santos, A. C.; Wilson, E. D.; *Nutrição Básica*, Sarvier, São Paulo, 1982, 286p.
- [4] Organização Mundial de Saúde, *Trace Elements in Human Nutrition. (Technical Report Series, n° 532)*, Genebra, Suíça, 1973.
- [5] Keller, E. A.; *Environmental Geology*, 7th ed., Prentice Hall, New Jersey, 1996, 358, 560p.
- [6] Frankenberger, Jr., W. T.; Benson, S.; *Selenium in the Environment*, Marcel Dekker, New York, 1994, 29, 456p.
- [7] Schwarz, K.; Foltz, C. M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 292.
- [8] Schwarz, K.; Foltz, C. M.; *J. Biol. Chem.*, 1958, **233**, 245.
- [9] Hatanaka, N.; Nakaden, H.; Yamamoto, Y.; Matsuo, S.; Fujiwara, T.; Matsuesue, S.; *Nutrition*, 2000, **16**, 22.
- [10] Smith, P. J.; Tappel, A. L.; Chow, C. K.; *Nature*, 1974, **247**, 392.
- [11] Stadtman, T. C.; *Science*, 1974, **183**, 915.
- [12] May, S. W. Pollock, S. H.; *Drugs*, 1998, **56**, 959.
- [13] Taylor, E. W.; Ramanathan, C. S.; Jalluri, R. K.; Nadimpalli, R. G.; *J. Med. Chem.*, 1994, **37**, 2637.
- [14] Wohl, M. G.; Goodhart, R. S.; *Modern Nutrition in Health and Disease*, 3rd ed., Lea & Febiger, New York, 1964, 1282p.
- [15] Orndahl, G.; Ridby, A.; Selin, E.; *Acta Med. Scan.*, 1982, **211**, 493.
- [16] Januzzi, G.; Krug, F. J.; Arruda, M. A. Z.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 375.
- [17] Dorea, J. G.; Moreira, M. B.; East, G.; Barbosa, A. C.; *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, **65**, 211.
- [18] Inam, R.; Somer, G.; *Food Chem.*, 2000, **69**, 345.
- [19] Lan, W. G.; Wong, M. K.; Sin, Y. M.; *Talanta*, 1994, **41**, 53.
- [20] Yusof, A. M.; Misni, M.; Wood, A. K. H.; *J. Rad. Nucl. Chem.*, 1997, **216**, 59.
- [21] Goulden, P. D.; Anthony, D. H. J.; Austen, K. D.; *Anal. Chem.*, 1981, **53**, 2027.
- [22] Onning, G.; Bergdahl, I. A.; *Analyst*, 1999, **124**, 1435.
- [23] Wei, L.; Gupta, P.; Hernandez, R.; Farhat, F.; *Microchem. J.*, 1999, **62**, 83.
- [24] Hussein, L.; Bruggeman, J.; *Food Chem.*, 1999, **65**, 527.
- [25] Kadraova, J.; Medaric, A.; Ginter, E.; *Food Chem.*, 1997, **58**, 29.
- [26] Zhou, S.; Belzile, N.; Chen, Y. W.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 1998, **72**, 205.
- [27] Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1996, **11**, 169.

- [28] García, I. L.; Viñas, P.; Campillo, N.; Córdoba, M. H.; *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 836.
- [29] Maage, A.; Julshamn, K.; Anderson, K. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 277.
- [30] Giné, M. F.; Krug, F. J.; Sass, V. A.; Reis, B. F.; Nóbrega, J. A.; Berndt, H.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 243.
- [31] Parsons, P. J.; Qiao, H.; Aldous, K. M.; Mills, E.; Slavin, W.; *Spectrochim. Acta*, 1995, **50B**, 1475.
- [32] L'vov, B.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 9.
- [33] Krakovska, E.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 205.
- [34] Silva, M. M.; Silva, R. B.; Krug, F. J.; Nóbrega, J. A.; Berndt, H.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 861.
- [35] Knochen, M.; Saritsky, E.; Dol, I.; *Quim. Anal.*, 1996, **15**, 184.
- [36] Nóbrega, J. A.; Silva, M. M.; Oliveira, P. V.; Krug, F. J.; Baccan, N.; *Quim. Nova*, 1995, **18**, 555.
- [37] Lee J. D.; *Química Inorgânica*, 3ª Edição, Edgard Blücher, São Paulo, 1980, 527p.
- [38] Piepmeier, E. H.; Williams, M.; *Anal. Chem.*, 1972, **44**, 1342.
- [39] Reid, R. D.; Piepmeier, E. H.; *Anal. Chem.*, 1976, **48**, 338.
- [40] Muzgin, V. N.; Atnashev, Y. B.; Korepanov, V. E.; Pupyshev, A. A.; *Talanta*, 1987, **34**, 197.
- [41] Berndt, H.; Schaldach, G.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 709.
- [42] Havesov, I.; Ivanova, E.; Berndt, H.; Schaldach, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1990, 336, 484.
- [43] Ivanova, E.; Havesov, I.; Berndt, H.; Schaldach, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1990, 336, 320.
- [44] Krug, F. J., Silva, M. M.; Oliveira, P. V.; Nóbrega, J. A.; *Spectrochim. Acta*, 1995, **50B**, 1469.
- [45] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Nóbrega, J. A.; Nogueira, A. R. A.; *Talanta*, 1998, **47**, 613.
- [46] Bruhn, C. G.; Ambiado, F. E.; Cid, H. J.; Woerner, R.; Tapia, J.; Garcia, R.; *Anal. Chim. Acta*, 1995, **306**, 183.
- [47] Bruhn, C. G.; Ambiado, F. E.; Cid, H. J.; Woerner, R.; Tapia, J.; Garcia, R.; *Quim. Anal.*, 1996, **15**, 191.
- [48] Luccas, P.O.; Nóbrega, J.A.; Oliveira, P.V.; Krug F.J.; *Talanta*, 1999, **48**, 695.
- [49] Silva, M. M.; Krug, F. J.; Oliveira, P. V.; Nóbrega, J. A.; Reis, B. F.; Penteado, D. A. G.; *Spectrochim. Acta*, 1996, **51B**, 1925.
- [50] Arruda, M. A. Z.; Santelli, R. E.; *Quim. Nova*, 1997, **20**, 638.
- [51] Deaker, M.; Maher, W.; *Anal. Chim. Acta*, 1997, **350**, 287.
- [52] Oliveira, P. V.; Queiroz, Z. F.; Krug, F. J.; Silva, C. S.; Rufini, I. A. ; *Spectrochim. Acta*, 2000, **submetido**.
- [53] Welz, B.; *Atomic Absorption Spectrometry*, 2nd Ed., VCH, Weinheim, 1985, 506p.

- [54] Ediger, R. D.; *At. Absorp. Newslett.*, 1975, **14**, 127.
- [55] Arruda, M.A.Z.; Gallego, M.; Valcarcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **5**, 657.
- [56] Liu, Y. M.; Gong, B. L.; Li, Z. H.; Xu, Y.; Lin, T. H.; *Talanta* 1996, **43**, 985.
- [57] Tsalev, D. L.; Dimitrov, T. A.; Mandzhukov, P. B.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1990, **5**, 189.
- [58] Bradshaw, D. K.; *Spectroscopy*, 1987, **2**, 30.
- [59] Sampson, B. J.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 1987, **2**, 447.
- [60] Cook, K. K.; *J. AOAC Int.*, 1996, **79**, 1162.
- [61] Lima, E. C.; Krug, F. J.; Jackson, K. W., *Spectrochim. Acta*, 1998, **53B**, 1791.
- [62] Dong, K.; Nakaguchi, Y.; Hiraki, K.; *Bunseki Kagaku*, 1997, **46**, 785.
- [63] Van Loon, J. C.; *Chemical Analysis of Inorganic Constituents of Water*, CRC Press, Boca Raton, 1982, 248p.
- [64] West, M. H.; Molina, J. F.; Yuan, C. L.; Davis, D. G.; Chauvin, J. V.; *Anal. Chem.*, 1979, **51**, 2370.
- [65] Skogley, E. O.; Dobermann, A.; *J. Environ. Qual.*, 1996, **25**, 13.
- [66] Reis, B. F.; Miranda, C. E. S.; Baccan, N.; *Quim. Nova*, 1996, **19**, 623.
- [67] Santos F^a, M. M.; Reis, B. F.; Krug, F. J.; Collins, C. H.; Baccan, N.; *Talanta*, 1993, **40**, 38.
- [68] Fang, Z.; *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH, Weinheim, 1993, 259p.
- [69] Analytical Methods Committee, *Analyst* 1987, **112**, 199.