

**ADRIANA PAIVA DE OLIVEIRA**

**Uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite na determinação de Se e Ni em bebidas não alcoólicas**

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

Araraquara  
2005

## DADOS CURRICULARES

### 1. DADOS PESSOAIS

- 1.1 Nome: Adriana Paiva de Oliveira
- 1.2 Data de nascimento: 26/02/1977
- 1.3 Nacionalidade: brasileira
- 1.4 Naturalidade: São Paulo
- 1.5 Estado civil: solteira
- 1.6 Filiação: Luiz Carlos Batista de Oliveira e Edite Lira de Paiva
- 1.7 Documento de identidade: 25.608.318-6 SSP/SP
- 1.8 Cadastro de Pessoa Física: 186726198 70
- 1.9 Endereço Residencial: Rua Soriano de Souza, 47 apto 12, Tatuapé, São Paulo – SP
- 1.10 Endereço Profissional: Instituto de Química de Araraquara – UNESP – Rua Prof. Francisco Degni, s/nº, Quitandinha, C.P 355, Araraquara – SP – CEP:14800-900, Tel. (0XX16) 3301-6600 ramal 6738 – Fax. (0XX16) 33227932
- 1.11 E-mail: [dri\\_poliv@ig.com.br](mailto:dri_poliv@ig.com.br)

### 2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

2.1 Doutora em Química pelo Instituto de Química de Araraquara – UNESP, Araraquara – SP (07/2002 – 7 /2005).

Sub-área: Espectrometria de Absorção Atômica

Título da Tese: Uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite na determinação de Se e Ni em bebidas não alcoólicas.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

2.2 Mestre em Química pelo Instituto de Química de Araraquara – UNESP, Araraquara – SP (07/2000 – 06/2002).

Sub-área: Espectrometria de Absorção Atômica

Título da Dissertação: Determinação direta e simultânea de Al, As, Cu, Fe, Mn e Ni em álcool etílico hidratado combustível por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

---

2.3 Bacharel em Química pelo Instituto de Química de Araraquara – UNESP, Araraquara – SP (1996 – 06/2000).

### 3. PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

#### 3.1 Periódicos Científicos

3.1.1 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Evaluation and application of cobalt as internal standard to correct sampling errors in the determination of Ni in soft drinks samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, v. 24, n. 4, p. 158-161, 2005.

3.1.2 LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; Sistema TS-FF-AAS com chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido nítrico em FAAS na determinação de estanho. **Eclética Química**, v.30, n.2, p. 61-68, 2005.

3.1.3 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Internal standardization in graphite furnace atomic absorption spectrometry: comparative use of As and Ge to minimize matrix effects on Se determination in milk. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, p. 681-686, 2005.

3.1.4 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry using arsenic as internal standard. **Food Chemistry**, v.93, p. 355 – 360, 2005.

3.1.5 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Use of the internal standardization for difficult sampling by graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Talanta**, v.64, p.334-337, 2004.

---

3.1.6 OSHITA, D.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Determinação direta e simultânea de Al, As, Fe, Mn e Ni em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, **Eclética Química**, v.28 , p.91-96, 2003.

3.1.7 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Direct Determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in Fuel Ethanol by Simultaneous GFAAS Using Integrated Platforms Pretreated With W-Rh Permanent Modifier Together With Pd+Mg Modifier, **Atomic Spectroscopy**, v.23 (6), p.190-195, 2002.

3.1.8 OLIVEIRA, A. P.; OKUMURA, L. L.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Avaliação do método das adições de analito para a determinação de sódio em álcool combustível por espectrometria de emissão atômica em chama, **Eclética Química**, v.27, 2002.

3.1.9 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Simultaneous determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in Fuel Ethanol by GFAAS, **Atomic Spectroscopy**, v.23 (2), p.39-43, 2002.

3.1.10 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; DAKUZAKU, C. S.; FRESCHI, G. P. G.; MORAES, M.; CRESPI, M. S. Deposição eletrolítica catódica e anódica simultâneas para minimizar interferências de cobre e chumbo na determinação espectrofotométrica de cádmio em água e alimentos via reação com Verde de Malaquita e Iodeto, **Química Nova**, v.24 (6), p.743-747, 2001.

3.1.11 OLIVEIRA, A. P.; DAKUZAKU, C. S.; FRESCHI, G. P. G.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M. Minimization of lead and copper interferences on spectrophotometric determination of cadmium using electrolytic deposition and ion-exchange in multi-commutation, flow system, **Talanta**, v.53 (3), p.497-503, 2000.

---

## 4. PREMIAÇÕES

4.1 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; The poster competition for Monday, August 2, 2004, recognizes with honorable mention the achievements of Comparison of “Comparative study of the arsenic and germanium as internal standard to minimize matrix effects on the Se determination in milk by simultaneous graphite furnace AAS”, apresentado no VIII Rio Symposium on Atomic Spectrometry, realizado no período de 01 a 06 de agosto de 2004, Paraty, Rio de Janeiro.

## 5. EVENTOS CIENTÍFICOS

### 5.1 Participação em Eventos Científicos

5.1.1 **11º Encontro Nacional de Química Analítica - ENQA**, realizado no período de 18 a 21 de setembro de 2001 em Campinas, São Paulo.

5.1.2 **XIII Encontro Regional de Química da Sociedade Brasileira de Química**, realizado no período de 21 a 26 de outubro de 2001 em Araraquara, São Paulo.

5.1.3 **Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, realizado no período de 7 a 12 de abril de 2002 em Florianópolis, Santa Catarina.

5.1.4 **IV Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages**, realizado no período de 2 a 4 de dezembro de 2002 em Campinas, São Paulo.

5.1.5 **26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, realizado no período de 26 a 29 de maio de 2003 em Poços de Caldas, Minas Gerais.

5.1.6 **12º Encontro Nacional de Química Analítica - ENQA**, realizado no período de 14 a 17 de outubro de 2003 em São Luiz, Maranhão.

5.1.7 **XXVI CLAQ/27ª RASBQuímica**, realizada no período de 30 de maio a 2 de junho de 2004 em Salvador, Bahia.

---

5.1.8 **8<sup>th</sup> Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, realizado no período de 01 a 06 de agosto de 2004 em Paraty, Rio de Janeiro.

5.1.9 **IX Encontro Nacional sobre Contaminantes Inorgânicos e VI Simpósio sobre a Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana**, realizado no período de 22 e 23 de setembro 2004 em São Paulo, São Paulo.

5.1.10 **IV Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages**, realizado no período de 01 a 04 de dezembro de 2004 em São Carlos, São Paulo.

## **5.2 Trabalhos apresentados em eventos científicos**

5.2.1 OLIVEIRA A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; CARDOSO, A. A. Minimization of lead and copper interferences on spectrophotometric determination of cadmium using electrodeposition and ion-exchange in multi-commutation flow system, apresentado na forma de pôster na **European Conference on Analytical Chemistry-Euroanalysis XI**, Lisboa, 2000.

5.2.2 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; FERNANDES, K. G.; FILHO, V. R. A.; LIMA, E. C. Emprego de W-Rh como modificador permanente na determinação direta e simultânea de elementos-traço em álcool combustível, apresentado na forma de pôster no **XIII Encontro Regional de Química da Sociedade Brasileira de Química**, Araraquara, 2001.

5.2.3 OLIVEIRA A. P.; OKUMURA, L. L.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Determinação de sódio em álcool combustível por fotometria de chama utilizando o método da compatibilização de matriz, apresentado na forma de pôster e oral no **XIII Encontro Regional de Química da Sociedade Brasileira de Química**, Araraquara, 2001.

5.2.4 OLIVEIRA A. P.; OKUMURA, L. L.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Determinação de sódio em álcool combustível por fotometria de chama utilizando o método da compatibilização de matriz, apresentado na forma de pôster no **XIII Encontro Regional de Química da Sociedade Brasileira de Química**, Araraquara 2001.

---

5.2.5 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; FERNANDES, K. G.; FILHO, V. R. A.; LIMA, E. C. Determinação direta simultânea de Mn, Fe, Ni, Cu, Al e As em álcool combustível, por GFAAS, apresentado na forma de pôster no **11º Encontro Nacional de Química Analítica- ENQA**, Campinas, 2001.

5.2.6 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Direct Determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in fuel alcohol by GFAAS with transversely heated graphite atomizer and longitudinal zeeman-effect background correction, apresentado na forma de pôster no **Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, Florianópolis, 2002.

5.2.7 FILHO, V. R. A.; OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; LIMA, E. C. Determinação simultânea de As, Cu, Mn e Sb em águas minerais por GFAAS empregando W-Rh como modificador permanente, apresentado na forma de pôster na **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ**, Poços de Caldas, 2002.

5.2.8 OSHITA, D.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Um método simples e rápido para determinação simultânea de Al, As, Mn e Ni em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, foi apresentado como comunicação oral no **IV Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages**, Campinas, 2002.

5.2.9. OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Determinação de elementos traço em álcool combustível por GFAAS utilizando os modificadores W/Rh e Pd+ Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, apresentado na **26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas, 2003.

5.2.10 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Estudo da aplicação de As como padrão interno na determinação de Se em águas minerais gaseificadas por GFAAS, apresentado na **26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas, 2003.

---

5.2.11 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Determinação de elementos-traço em álcool combustível por GFAAS utilizando os modificadores W/Rh e Pd+Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, apresentado na forma de pôster (Workshop) - Química Analítica de Petróleo e Derivados no **12º Encontro Nacional de Química Analítica**, São Luiz, 2003.

5.2.12 OSHITA, D.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Avaliação de tubo de grafite tratado com tungstênio na análise de amostras agroindustriais empregando GFAAS, apresentado na forma de pôster no **12º Encontro Nacional de Química Analítica**, São Luiz, 2003

5.2.13 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Efeito da concentração do padrão interno sobre a correção do sinal analítico em GFAAS, apresentado na forma de pôster no **12º Encontro Nacional de Química Analítica**, São Luiz, 2003.

5.2.14 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Estudo da aplicação de As como padrão interno na determinação de Se em águas de coco por GFAAS, apresentado na forma de pôster no **12º Encontro Nacional de Química Analítica**, São Luiz, 2003.

5.2.15 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Estudo da aplicação de As como padrão interno na determinação de Se em águas de coco por GFAAS, apresentado na forma oral no **12º Encontro Nacional de Química Analítica**, São Luiz, 2003.

5.2.16 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Avaliação de arsênio como padrão interno na determinação de selênio em leites por GFAAS, apresentado na forma de pôster no **XXVI CLAQ/27ª RASBQuímica**, Salvador, 2004.

5.2.17 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; FERREIRA, M. A.; Emprego da quimiometria na avaliação de modificadores químicos na determinação de elementos traço em álcool combustível por GFAAS, apresentado na forma de pôster no **XXVI CLAQ/27ª RASBQuímica**, Salvador, 2004.

---



5.2.18 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Comparative study of the arsenic and germanium as internal standard to minimize matrix effects on the Se determination in milk by simultaneous graphite furnace AAS, apresentado na forma de pôster no **VIII Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, Paraty, 2004.

5.2.19 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Evaluation of Co as internal standard to correct sampling errors in the determination of Ni in soft drinks by GFAAS, apresentado na forma de pôster no **VIII Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, Paraty, 2004.

5.2.20 LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; Method development for the determination of tin by thermospray flame furnace AAS, apresentado na forma de pôster no **VIII Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, Paraty, 2004.

5.2.21 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V.; Determinação de selênio em alimentos com relevância nutricional por espectrometria de absorção atômica em forno em forno de grafite utilizando arsênio como padrão interno, apresentado na forma de pôster no **IX Encontro Nacional sobre Contaminantes Inorgânicos e VI Simpósio sobre a Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana**, São Paulo, 2004.

5.2.22 SILVA, P. F.; OLIVEIRA, A. P.; SANTOS Jr., D.; KRUG, F. J.; GOMES NETO, J. A.; Determinação direta de chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) utilizando W-Rh como modificador permanente, apresentado na forma de pôster no **10º Encontro Científico dos Pós-Graduandos no CENA-USP**, Piracicaba, 2004.

5.2.23 SILVA, P. F.; OLIVEIRA, A. P.; SANTOS Jr., D.; KRUG, F. J.; GOMES NETO, J. A.; Determinação direta de chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) utilizando W-Rh como modificador permanente, apresentado na forma oral no **10º Encontro Científico dos Pós-Graduandos no CENA-USP**, Piracicaba, 2004.

---

5.2.24 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; Minimization of matrix and sampling errors on beverages analysis by atomic absorption spectrometry using internal standardization, apresentado na forma de pôster no **V Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages**, São Carlos 2004.

5.2.25 LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; Desenvolvimento de procedimento analítico utilizando TS-FF-AAS para a determinação de estanho, apresentado na forma de pôster na **28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas, 2005.

5.2.26 LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; Avaliação de tubo cerâmico como cela de atomização na determinação de estanho por TS-FF-AAS, apresentado na forma de pôster na **28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas, 2005.

## 6. CO-ORIENTAÇÃO

6.1 Co-orientadora da aluna Daniele Oshita junto à disciplina de Graduação **Iniciação à Pesquisa Científica**, no ano de 2002, com o projeto “Determinação direta e simultânea de Al, As, Fe, Mn e Ni em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite”.

## 7. ESTÁGIOS

7.1 Instituto de Química de Araraquara (UNESP): estágio de 360 horas (1998-2000) em Iniciação a Pesquisa Científica (Pré-requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Química). Monografia: Minimização das interferências de Pb e Cu na determinação espectrofotométrica de Cd utilizando deposição eletrolítica, troca iônica e sistema em fluxo”. Conceito de Aprovação: 10 (dez).

7.2 Estágio Docência realizado durante o primeiro semestre de 2002 junto à disciplina de Graduação “Química Analítica Quantitativa” (80 horas), do Instituto de Química – UNESP- sob responsabilidade do Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Hideko Yamanaka

---

7.3 Estágio Docência realizado durante o segundo semestre de 2002 junto a disciplina de Graduação “Química Analítica Instrumental II” (60 horas), do Instituto de Química – UNESP- sob responsabilidade do Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

## **8. ATIVIDADES DOCENTES**

8.1 Pós-graduação: monitora junto à disciplina de Pós-graduação “Princípios da análise química em sistemas de injeção em Fluxo” (30 horas), do Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química – UNESP- sob responsabilidade do Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto, no ano de 2001.

8.2 Pós-graduação: monitora junto à disciplina de Pós-graduação “Princípios da análise química em sistemas de injeção em Fluxo” (30 horas), do Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química – UNESP- sob responsabilidade do Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto, no ano de 2003.

8.3 Segundo Grau: Professora Voluntária de Inglês e Química no Cursinho Pré-Vestibular Educafro da Organização Não Governamental – FONTE - Frente Organizada de Temática Étnica, no período de 2003 a 2005.

8.4 Seminário Geral de Pós-Graduação em Química: “Química Verde: desenvolvimento da química à busca de um ambiente limpo e saudável”, apresentado no dia 26/03/2004.

## **9. PALESTRAS MINISTRADAS**

9.1 “Fontes de energia renovável: Um grande desafio”, ministrada na XXXIV Semana da Química do Instituto de Química de Araraquara (UNESP) no dia 25 de outubro de 2004.

9.2 Programa de Palestras para Alunos do Ensino Médio – Ano XI – CPEU, proferiu palestra intitulada: “A Importância da Química Analítica para a Sociedade”, sob responsabilidade dos Profs. Drs. Mercedes de Moraes e José Anchieta Gomes Neto, no dia 10/06/2003 no Colégio Kuarup em Ribeirão bonito – SP.

---

9.3 Programa de Palestras para Alunos do Ensino Médio – Ano XI – CPEU , proferiu palestra intitulada: “A Importância da Química Analítica para a Sociedade”, sob responsabilidade dos Profs. Drs. Mercedes de Moraes e José Anchieta Gomes Neto, no dia 07/06/2002 no EEPSG em Borborema – SP.

9.4 Programa de Palestras para Alunos do Ensino Médio – Ano VIII – CPEU , proferiu palestra intitulada: “A Importância da Química Analítica para a Sociedade”, sob responsabilidade dos Profs. Drs. Mercedes de Moraes e José Anchieta Gomes Neto, no dia 11/09/2001 no EEPSG Major Prado em Jaú – SP.

## **10. TRABALHOS DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA**

10.1 Bolsista de extensão universitária como estagiária do Centro de Ciências de Araraquara, no período de agosto/97 até dezembro/97 sob responsabilidade do Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira.

10.2 Participação no PROFIC/COC Ribeirão Preto, em Ribeirão Preto – SP, como divulgadora do Curso de Química do Instituto de Química de Araraquara (UNESP), no período de 28 a 30 de agosto de 1997.

## **11. OUTROS**

11.1 Conhecimento em línguas estrangeiras:

Inglês: Proficiência adquirida durante o Mestrado.

Data de aprovação: 09/03/2001.

Italiano: Proficiência adquirida durante o Doutorado.

Data de aprovação: 30/01/2003

11.2 Conhecimento de informática: Word, Origin, Power Point, Internet e Acessórios.

---

A **Deus**, que me conduz pela estrada certa e me apoia na garantia de tua benção.

*Dedico*

*Aos meus pais **Edite e Luiz** que sempre me incentivaram e apoiaram nesta batalha com muito amor, carinho e paciência.*

*Ao meu irmão **Bruno**, meu melhor amigo e companheiro.*

*Dedico*

## Oração da Vida

A vida é uma oportunidade. *Aproveite-a.*

A vida é uma beleza. *Admire-a.*

A vida é um sonho. *Faça que se torne realidade.*

A vida é um desafio. *Enfrente-o.*

A vida é um dever. *Cumpra-o.*

A vida é preciosa. *Cuide dela.*

A vida é riqueza. *Conserve-a.*

A vida é um mistério. *Explore-o.*

A vida é promessa. *Tenha esperança.*

A vida é tristeza. *Supere.*

A vida é um hino. *Cante-o.*

A vida é um combate. *Vença.*

A vida é uma aventura. *Conduza-a.*

A vida é felicidade. *Mereça-a.*

A vida é vida. *Defenda-a.*

*(Madre Tereza de Calcutá)*

## AGRADECIMENTOS

Nestes nove anos de vida acadêmica são muitos os meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a minha estada na **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**. Vou sentir muitas saudades e serão eternas as minhas lembranças.

Aos meus pais **Edite e Luiz** por terem me concedido a oportunidade de estudar em uma Universidade pública, gratuita e de qualidade. Obrigada por terem depositado esta confiança em mim e de sempre estarem ao meu lado, mesmo à distância, dentro do meu coração.

Ao meu irmão **Bruno**, uma pessoa muito especial e importante em minha vida.

Ao meu namorado **Ricardo**, uma pessoa muito especial para mim. Obrigada pela paciência, carinho e companheirismo.

Este trabalho foi realizado graças à colaboração de várias pessoas, não somente física, mas por meio de muita amizade e companheirismo.

Ao professor **Dr. José Anchieta Gomes Neto**, por sua orientação, compreensão e conselhos. Oito anos de trabalho, convivência e luta. Uma grande experiência!

À professora **Dr<sup>a</sup> Mercedes de Moraes**, pelo carinho, ensinamentos e amizade. Uma pessoa especial que sempre tem um sorriso e uma palavra de conforto e merece a minha admiração. Obrigada!

Ao professor **Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega**, pela colaboração, parceria e auxílio durante a realização deste trabalho, bem como na minha evolução profissional. Uma pessoa atenciosa e sempre disposta a ajudar. Muito obrigada!

Ao professor **Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira**, pela parceria e colaboração neste trabalho. Obrigada pela paciência e atenção.

Aos professores **Dr. Júlio César Rocha e Dr. Massao Ionashiro** pela oportunidade de refletir sobre a pesquisa em Química Analítica e pelos questionamentos e apreciação crítica do trabalho durante o Exame de Qualificação.

Aos meus colegas de equipe do **Grupo de Espectroanalítica e Automação: Carol, Fabiane, Gian, Marielza, Patrícia, Silvana, Tina, Ricardo, Vanessa e Volnei**, pelos conselhos e colaboração durante a realização deste trabalho.

Às minhas amigas e colegas de grupo **Fabiana e Elisangela**, pela amizade, carinho, compreensão e paciência durante estes anos de convivência. Foi um prazer enorme conhecer vocês.

À **Daniele Oshita**, uma pessoa batalhadora e profissional. A minha "filha da ciência", obrigada pela amizade.

Aos meus eternos amigos de **IQ-UNESP** (caso esqueça alguém, me desculpem): **Coquinho, Paulinha, Saúva, Lika, Rosana, República Sobradinho e agregadas, Rilmara, Jéje, Massaro, Emy, Barbie, Lucelena, DC, Léo, Noemi, Selminha, Diana, Iracema, Duende, Cebinho, Elis, Soledad, Julinha, Frangão, Jataí, Aninha, Neidoca, Piriquito e Flavinha. MUITO OBRIGADA!**

Aos meus amigos do **CENA/USP** e do **IQ-USP-SP**: **Paulino, Dário, Fernando, Juliana, Cassiana, Rita e Angerson**. Obrigada pela paciência, críticas e conselhos.



Ao pessoal do *DAWS, Associação dos Ex-alunos do Instituto de Química da UNESP, Empresa Júnior Projetos & Consultoria, e do Centro de Ciências de Araraquara*, pela confiança e oportunidade concedida.

A todos os *docentes do IQ-UNESP* pela formação sólida e concisa em Química.

Às *secretárias da Seção de Pós-Graduação* pelo atendimento sempre atencioso e amigo.

Às *bibliotecárias* pela dedicação, atenção, paciência e pelo auxílio na correção das referências bibliográficas.

Ao *pessoal do Xerox*, pela atenção e colaboração.

Ao *pessoal do SAEPE: Rose, Gaspar e Reinaldo*, pela enorme colaboração e paciência.

Ao *pessoal do posto FAPESP: Rose e Marli*, pela enorme dedicação, paciência e colaboração.

Ao *pessoal do pólo computacional*, pela atenção e prestação de serviços.

À *FAPESP* pela bolsa concedida e auxílio financeiro.

*Meus sinceros agradecimentos.*

## *CRESCER É...*

*Ser cada dia um pouco mais nós mesmos. ...*

*Dar espontaneamente sem cobrar inconscientemente. ...*

*Aprender a ser feliz de dentro para fora. ...*

*Buscar no próximo um meio de nos prolongarmos. ...*

*Sentir a vida na natureza. ...*

*Entender a morte como natural da vida. ...*

*Conseguir a calma na hora do caos. ...*

*Ter sempre uma arma para lutar e uma razão para ir em frente. ...*

*Saber a hora exata de parar e buscar um algo novo. ...*

*Não devanear sobre o passado, mas trabalhar em cima dele para o futuro. ...*

*Reconhecer nossos erros e valorizar nossas virtudes. ...*

*Conseguir a liberdade com equilíbrio para não sermos libertinos. ...*

*Exigir dos outros, apenas o que nós damos a eles. ...*

*Realizar sempre algo edificante. ...*

*Ser responsável por nossos atos e por suas conseqüências. ...*

*Entender que temos o espaço de uma vida inteira para crescer. ...*

*Nos amarmos para que possamos amar os outros como nós mesmos. ...*

*Assumir que nunca seremos grandes,*

*mas que o importante é estar sempre em crescimento.*

*Autor desconhecido*

## RESUMO

Foram feitos estudos sistemáticos envolvendo padronização interna (PI) em determinações de elementos-traço em bebidas não alcoólicas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS). A influência da composição química das amostras, da concentração do padrão interno, do volume injetado de amostra, da diluição e do desgaste da superfície gráfrica ilustraram a potencialidade de PI na melhoria da precisão e da exatidão analítica ou mesmo na minimização de efeitos de amostragem e de matriz. Arsênio e Ge foram avaliados como padrões internos na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite. Ambos melhoraram o desempenho analítico, seja no aspecto da precisão e exatidão como na minimização dos efeitos de matriz e amostragem. Nesse estudo foram utilizados como modificadores químicos  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , W/Rh e W associado a co-injeção de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ . Os desvios padrões relativos (%RSD) obtidos por meio da PI foram 0,5 a 3,5% (As) e de 1,0 a 3,1% (Ge), e na ausência da PI foram de 1,0 a 6,5%. A exatidão do método proposto foi avaliada por meio de teste de adição e recuperação de analito e os valores de recuperação ( $n=3$ ) obtidos foram 94-109% (As) e 98-104% (Ge) com a PI e de 70-100% sem a PI. As concentrações de Se nessas amostras variaram de 5,0-25  $\mu\text{g L}^{-1}$ . No caso das amostras de água mineral gaseificada houve um aumento de 15% no tempo de vida útil do tubo e um acréscimo na confiabilidade dos resultados, apesar da superfície gráfrica deteriorada. Cobalto foi avaliado como padrão interno na determinação de Ni em refrigerante e apresentou potencial para minimizar problemas de amostragem causados por gases dissolvidos. O modificador químico utilizado foi  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Os desvios padrões relativos obtidos foram de 0,5 a 3,4% e de 1,0 a 7,0% na presença e na ausência da PI, respectivamente. A exatidão do método proposto foi avaliada por meio de teste de adição e recuperação do analito e recuperações entre 98-104% e 78-91% foram obtidas com e sem PI,

---

respectivamente. As concentrações de Ni encontradas em amostras comerciais variaram de 4,2 a 15,6  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Palavras-chave: GFAAS, padronização interna, contaminantes inorgânicos, bebidas não alcoólicas.

---

**ABSTRACT**

Systematic studies of internal standardization (IS) were carried out on the simultaneous determination of trace elements in non-alcoholic beverages by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). The influence of samples matrices, analyte concentration, injected sample volume, sample dilution and graphite surface degradation showed the potentiality of IS on the improvement of precision and accuracy of results, or in the minimization of matrix and sampling effects. Arsenic and Ge were evaluated as internal standards for the determination of Se in sparkling waters, coconut water and milk. Different chemical modifiers  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{W/Rh}$  e  $\text{W} +$  co-injection of  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  were evaluated. The relative standard deviation (%RSD) obtained by IS were 0.5-3.5% (As) and 1.0-3.1% (Ge), and in the absence of IS were 1.0-6.5%. The accuracy of the proposed method was evaluated by addition-recovery test and the recovery ( $n=3$ ) were 94-109% (As) and 98-104% (Ge) with the IS and 70-100% without IS. The Se concentrations in these samples varied from 5.0-25  $\mu\text{g L}^{-1}$ . For sparkling waters there was an increase in 15% in the lifetime of atomizer. Cobalt was evaluated as an internal standard in the determination of Ni in soft drinks and it minimized sampling problems caused by dissolved gases. Nitrate magnesium was used as chemical modifier. The relative standard deviation obtained were 0.5-3.4% and 1.0-7.0% in presence and absence of IS, respectively. The accuracy of the proposed method was evaluated by addition-recovery test and the recovery ( $n=3$ ) were 98-104% and 78-91% with and without IS, respectively. The Ni concentrations found in the samples varied from 4.2-15.6  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Keywords: GFAAS, internal standardization, inorganic contaminants, non-alcoholic beverages.

---

**LISTA DE QUADROS**

	Pág
<b>Quadro 1.1</b> Trabalhos envolvendo a padronização interna em espectrometria de absorção atômica.	46

---

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 3.1</b> Principais componentes do espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica Perkin-Elmer, Modelo SIMAA 6000. Os números entre parênteses correspondem a (1) lâmpadas HCL <sub>s</sub> ou EDL <sub>s</sub> (2) tubos THGA, (3) sistema óptico e (4) detector de estado sólido	48
<b>Figura 4.1</b> Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se e As na presença do modificador químico Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> em água mineral gaseificada (1+1, v/v) contendo 0,2% (v/v) HNO <sub>3</sub> + 25 µg L <sup>-1</sup> Se e As.	78
<b>Figura 4.2</b> Sinais de absorbância obtidos para (A) 25 µg L <sup>-1</sup> Se, (B) 25 µg L <sup>-1</sup> As em água mineral gaseificada (1+1; v/v) em 0,2 % HNO <sub>3</sub> utilizando Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> como modificadores químicos.	79
<b>Figura 4.3</b> Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se e As na presença do modificador W/Rh em água de coco (1+4; v/v) contendo 1,0% (v/v) HNO <sub>3</sub> + 25 µg L <sup>-1</sup> Se e As.	80
<b>Figura 4.4</b> Sinais de absorbância obtidos para (A) 25 µg L <sup>-1</sup> Se, (B) 25 µg L <sup>-1</sup> As em água de coco (1+4; v/v) em 1,0 % HNO <sub>3</sub> utilizando W/Rh como modificador químico permanente.	81
<b>Figura 4.5</b> Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se, As e Ge na presença do modificador químico W+Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> em leite (1+9, v/v) em meio 1,0% (v/v) HNO <sub>3</sub> + 50 µg L <sup>-1</sup> Se , As e Ge.	81

---

- Figura 4.6** Sinais de absorvância obtidos para (A)  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, (B)  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As e (C)  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  Ge em leite (1+9; v/v) em 1,0 %  $\text{HNO}_3$  utilizando  $\text{W}^+$  co-injeção de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  como modificadores químicos. 83
- Figura 4.7** Correlação entre absorvância e concentração de As em água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$ . 84
- Figura 4.8** Efeito da adição de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como PI nas amostras sobre a correção do sinal do Se, sem adição de As como contaminante (a), com adição de  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (b) e com adição de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (c). 85
- Figura 4.9** Efeito da adição de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As como PI nas amostras sobre a correção do sinal do Se, sem adição de As como contaminante (a), com adição de  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (b) e com adição de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (c). 85
- Figura 4.10** Correlação absorvâncias de Se e As e a razão das absorvâncias em diferentes amostras de água mineral gaseificada. Absorvâncias referentes à água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As. 87
- Figura 4.11** Correlação absorvâncias de Se e As e a razão das absorvâncias em diferentes amostras de água de coco. Absorvâncias referentes à água de coco (1+4, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As. 88
-



- Figura 4.12** Influência da matriz na absorvância de Se. Curvas analíticas em leite integral (a), semi-desnatado (b) e desnatado (c), sem (A) e com a padronização interna utilizando arsênio (B) e germânio (C) como padrões internos. Foram utilizados 0; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge em leites (1+9, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$ . 89
- Figura 4.13** Gráficos de correlação para (A) Se/As e (B) Se/Ge em leite (1+9, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se + 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge. 92
- Figura 4.14** Efeito da variação do volume injetado na absorvância. As absorvâncias correspondem a medidas de uma solução de leite diluído (1+9; v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se + 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As (A) e Ge (B) na presença do modificador químico W+  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ . 93
- Figura 4.15** Investigação do tempo de vida útil do atomizador em água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  As. As setas cheias e pontilhadas indicam o momento de substituição do tubo sem e com a PI, respectivamente. 96
- Figura 4.16** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Ni e Co na presença do modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  em refrigerante (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni e Co. 107
- Figura 4.17** Sinais de absorvância obtidos para 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co (A) e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni (B) em refrigerante (1+1; v/v) em 0,2 % (v/v)  $\text{HNO}_3$  utilizando  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  como modificador químico. 108
-

- Figura 4.18** Correlação entre absorvâncias de Ni e Co e a razão das absorvâncias em diferentes amostras de refrigerante. Absorvâncias referentes a refrigerantes (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Ni e 50 µg L<sup>-1</sup> Co na presença do modificador químico Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 109
- Figura 4.19** Efeito da variação do volume injetado na absorvância de Ni e Co em refrigerante (1+1,v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Ni e 50 µg L<sup>-1</sup> Co na presença do modificador químico Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 110
- Figura 4.20** Gráfico de correlação entre Ni e Co em refrigerante (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Ni e 50 µg L<sup>-1</sup> Co na presença do modificador químico Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 112
-

**LISTA DE TABELAS**

	Pág.
<b>Tabela 3.1</b> Condições operacionais das fontes primárias de radiação	49
<b>Tabela 3.2</b> Programa de aquecimento do tubo de grafite para Se e As em água mineral gaseificada empregando o modificador químico Pd (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	55
<b>Tabela 3.3</b> Seqüência do programa de recobrimento do atomizador com o modificador químico permanente W/Rh	56
<b>Tabela 3.4</b> Programa de aquecimento do tubo de grafite para Se e As em água de coco na presença do modificador químico permanente W/Rh.	57
<b>Tabela 3.5</b> Programa de aquecimento do tubo de grafite para As, Ge e Se em leite na presença de W+ co-injeção de Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> como modificadores químicos.	58
<b>Tabela 3.6</b> Programa de aquecimento utilizado nas medidas de Ni e Co em refrigerantes usando Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> como modificador	65
<b>Tabela 4.1</b> Parâmetros físico-químicos dos elementos Ge, As e Se e de seus respectivos óxidos e cloretos	71
<b>Tabela 4.2</b> Valores aproximados dos coeficientes angulares das curvas analíticas com e sem a padronização interna ilustradas na Figura 4.12	90
<b>Tabela 4.3</b> Efeito da diluição da amostra na repetibilidade	94
<b>Tabela 4.4</b> Comparação da repetibilidade do método proposto com o já existente na literatura	95

---

---

<b>Tabela 4.5</b>	Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em águas minerais gaseificadas sem e com padronização interna.	97
<b>Tabela 4.6</b>	Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em águas de coco sem e com a padronização interna.	99
<b>Tabela 4.7</b>	Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n= 3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em leites sem e com a padronização interna.	101
<b>Tabela 4.8</b>	Parâmetros físico-químicos para os elementos Ni e Co e seus respectivos óxidos e cloretos.	105
<b>Tabela 4.9</b>	Resultados comparativos dos teores de Ni, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (valor entre parênteses) da determinação direta de Ni em refrigerantes sem e com a padronização interna.	113

---

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

AAS	<b>.Espectrometria de Absorção Atômica</b> , das iniciais em inglês de <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
PI	<b>Padronização Interna</b>
ICP-OES	<b>Espectrometria de Emissão Atômica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado</b> , das iniciais em inglês de <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ICP-MS	<b>Espectrometria de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado</b> , das iniciais em inglês de <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
FAAS	<b>Espectrometria de Absorção Atômica em Chama</b> , das iniciais em inglês de <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GFAAS	<b>Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite</b> , das iniciais em inglês de <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
FAES	<b>Espectrometria de Absorção Emissão em Chama</b> , das iniciais em inglês de <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>
HG-GF AAS	<b>Espectrometria de absorção atômica em forno</b>

---

---

	<b>de grafite acoplada a geração de hidretos</b> , das iniciais em inglês de <i>Hydride Generation Coupled to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
THGA	<b>Tubo de grafite com aquecimento transversal</b> , das iniciais em inglês de <i>Transversely-Heated Graphite Atomizer</i>
EDL	<b>Lâmpada de Descarga sem Eletrodo</b> , das iniciais em inglês de <i>Electrodeless Discharge Lamp</i>
HCL	<b>Lâmpada de catodo oco</b> , das iniciais em inglês de <i>Hollow Cathode Lamp</i>
$\Delta G$	<b>Energia Livre de Gibbs</b>
$\Delta G^0$	<b>Energia Livre de Gibbs padrão</b>
r	<b>Coefficiente de Correlação</b>
a	<b>Coefficiente Linear</b>
b	<b>Coefficiente Angular</b>
LOD	<b>Limite de Detecção</b> das iniciais em inglês de <i>Limit of Detection</i>
SD	<b>Desvio Padrão</b> , das iniciais em inglês de <i>Standard Deviation</i>
$m_0$	<b>Massa Característica</b>
RSD	<b>Desvio Padrão Relativo</b> , das iniciais em inglês de <i>Relative Standard Deviation</i>

---

**SUMÁRIO**

	Pág.
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	36
1.1 Padronização interna em espectrometria de absorção atômica	36
1.2 Revisão bibliográfica	41
<b>2. PROPOSTA DE TRABALHO</b>	47
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b>	48
3.1 Materiais	48
3.1.1 Instrumentos e acessórios	48
3.1.2 Reagentes, soluções e amostras	50
3.1.3 Preparo das amostras	51
3.1.4 Descontaminação e armazenamento	52
3.2 Método	53
3.2.1 Avaliação da padronização interna na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite por GFAAS	53
3.2.1.1 Estudo do comportamento eletrotérmico	53
3.2.1.2 Efeito da concentração do padrão interno na correção do sinal analítico	58
3.2.1.3 Influência da matriz na absorbância	58
3.2.1.4 Gráficos de correlação	59
3.2.1.5 Efeito da variação do volume injetado na absorbância	61
3.2.1.6 Efeito da diluição da amostra na repetibilidade	61

---

---

3.2.1.7 Estudo comparativo da repetibilidade do método proposto com método já existente na literatura para a determinação de Se em águas de coco	61
3.2.1.8 Influência do desgaste da superfície gráfrica na absorbância	62
3.2.1.9 Teste de adição e recuperação de analito	62
3.2.2 Avaliação de Co como padrão interno na determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS	64
3.2.2.1 Estudo do comportamento eletrotérmico	64
3.2.2.2 Influência da matriz na absorbância	65
3.2.2.3 Efeito da variação do volume injetado na absorbância	65
3.2.2.4 Gráfico de correlação	66
3.2.2.5 Teste de adição e recuperação de analito	66
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>67</b>
4.1 Avaliação da padronização interna na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite por GFAAS	67
4.1.1 Problemas analíticos encontrados nas amostras selecionadas	67
4.1.2 Parâmetros físico-químicos	69
4.1.3 Estudo do comportamento eletrotérmico	78
4.1.4 Efeito da concentração do padrão interno na correção do sinal analítico	83
4.1.5 Influência da matriz na absorbância	86
4.1.6 Gráficos de correlação	90
4.1.7 Efeito da variação do volume injetado na absorbância	92
4.1.8 Efeito da diluição da amostra na repetibilidade	93
4.1.9 Estudo comparativo da repetibilidade do método proposto com método já existente na literatura para a determinação de Se em águas de coco	94

---



---

4.1.10	Influência do desgaste da superfície gráfica na absorbância	95
4.1.11	Teste de adição e recuperação de analito	96
4.2	Avaliação de Co como padrão interno na determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS	103
4.2.1	Problemas analíticos encontrados na amostra selecionada	103
4.2.2	Parâmetros físico-químicos	104
4.2.3	Estudo do comportamento eletrotérmico	107
4.2.4	Influência da matriz na absorbância	109
4.2.5	Efeito da variação do volume injetado na absorbância	110
4.2.6	Gráfico de correlação	111
4.2.7	Teste de adição e recuperação de analito	112
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	114
<b>6.</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	116
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	117

---

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 PADRONIZAÇÃO INTERNA EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

As técnicas de análise instrumental requerem que o analito seja convertido em uma forma adequada para a sua detecção. No caso da espectrometria de absorção atômica (AAS)<sup>a</sup>, o princípio baseia-se na absorção da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação, por átomos do analito no estado fundamental. Os concomitantes podem provocar alterações na eficiência do processo de atomização, prejudicando a precisão e exatidão dos resultados analíticos e, além disso, as alterações das condições instrumentais e/ou experimentais podem gerar erros aleatórios e/ou sistemáticos, prejudicando a qualidade dos resultados<sup>1-3</sup>.

Os efeitos de matriz podem ser minimizados na maioria das vezes empregando-se um método de calibração mais adequado. Os métodos de calibração utilizados em AAS são: método das adições de analito, método da compatibilização de matriz e a padronização interna (PI). O método das adições de analito consiste na adição de soluções contendo diferentes quantidades conhecidas de analito a iguais volumes de amostra, sendo todas as soluções diluídas ao mesmo volume final, sendo empregada para compensar um decréscimo na sensibilidade causada pela matriz. Já a compatibilização de matriz baseia-se na preparação de cada solução analítica num meio com composição química e características físicas similares à da amostra, visando eliminar o efeito de matriz, ou interferências de transporte, etc. Outra possibilidade de calibração envolve a padronização interna<sup>4</sup>. Esta tem sido utilizada como uma ferramenta estratégica para minimizar os erros aleatórios e/ou sistemáticos em

---

<sup>a</sup> Das iniciais em inglês de Atomic Absorption Spectrometry.

---

espectrometria atômica. Na padronização interna a razão do sinal analítico pelo sinal do padrão interno é utilizada ao invés do sinal analítico apenas, possibilitando compensar as perturbações negativas ou positivas nos sinais, melhorando a precisão ou até mesmo a exatidão das medidas<sup>5-7</sup>.

Quando a padronização interna é aplicada, todos os cálculos são baseados na suposição que analito e padrão interno sofrem influências similares da matriz da amostra e de que ambos são perturbados igualmente pelas alterações nas condições instrumentais ou operacionais<sup>6-9</sup>.

Na literatura, a padronização interna vêm sendo explorada em técnicas que permitem a realização de determinações multielementares, tais como a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado<sup>10-17</sup> (ICP-OES)<sup>b</sup> e a espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado<sup>18-23</sup> (ICP-MS)<sup>c</sup>.

Com desenvolvimento de espectrômetros de absorção atômica simultâneos (sistemas multicanais<sup>24-25</sup>, simultâneos<sup>26</sup> e de fonte contínua<sup>27</sup>), visando às determinações multielementares, a padronização interna pode ser mais explorada.

Há uma predominância de trabalhos utilizando a padronização interna envolvendo a chama como atomizador, principalmente durante as décadas de 1960 e 1970, pois alguns espectrômetros utilizados eram compostos de dois sistemas ópticos que permitiam uma detecção independente, obtendo-se assim, a aquisição simultânea dos sinais. Os principais objetivos do uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS)<sup>d</sup> foram corrigir erros decorrentes de alterações das condições da chama, mudanças na eficiência de transporte e nebulização, interferências químicas geradas pela matriz, flutuações na intensidade do feixe de radiação e erros de diluição<sup>28-34</sup>. Recentemente, a padronização interna em FAAS foi aplicada para minimizar erros associados à introdução direta de sólidos

---

<sup>b</sup> Das iniciais em inglês de Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

<sup>c</sup> Das iniciais em inglês de Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

<sup>d</sup> Das iniciais em inglês de Flame Atomic Absorption Spectrometry

---

e suspensões<sup>35-38</sup>, porém é válido enfatizar a inexistência de espectrômetros de absorção atômica em chama multielementar, o que prejudica a avaliação de possíveis padrões internos em FAAS.

A espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)<sup>e</sup> é amplamente utilizada em análises de rotina em função de requerer pequenos volumes de amostra, o atomizador agir como reator químico, atingir excelentes limites de detecção após a separação do analito e matriz no reator, a decomposição prévia da amostra não ser requerida (análise direta), ter caráter multielementar (até 6 elementos atualmente, mas com potencial para mais elementos com a proposta recente de espectrometria de absorção atômica com fonte contínua), apresentar rapidez, baixo custo operacional relativo e espectro de absorção simples, proporcionar pré-tratamentos químicos e térmicos da amostra, entre outros. Uma grande vantagem desta técnica é a análise direta de amostras sólidas e ou suspensões, que simplifica o pré-tratamento da amostra e dispensa a abertura convencional (via seca ou via úmida), reduzindo a contaminação, o tempo e o custo final da análise<sup>2-3</sup>.

Apesar da GFAAS ser considerada uma técnica robusta e bem estabelecida<sup>2-3,6,39</sup>, erros sistemáticos e aleatórios podem prejudicar os resultados bem como o desempenho da técnica em questão<sup>1,40</sup>. Porém, alguns procedimentos podem ser adotados para garantir bons resultados analíticos. Por exemplo, em GFAAS é fundamental a adoção do conceito STPF<sup>f</sup>, pelo qual as medidas devem ser feitas em área de pico, com modificadores químicos e tubos de grafite com plataforma de L'vov, com corretores de fundo e processamento rápido do sinal e com a interrupção do gás de purga interno durante atomização, tubo com revestimento pirolítico<sup>2-3,41</sup>. Com o estabelecimento das condições STPF foi possível reduzir as interferências químicas durante o processo de atomização.

---

<sup>e</sup> Das iniciais em inglês de Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

<sup>f</sup> Das iniciais em inglês de Stabilised Temperature Platform Furnace

---

Os primeiros estudos utilizando a padronização interna em GFAAS visaram reduzir as interferências químicas causadas por concomitantes presentes na amostra e os erros devido às flutuações dos parâmetros instrumentais<sup>5-7,42-47</sup>. O advento de um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite simultâneo comercial resgatou o interesse pela padronização interna. Até o presente momento foram estudados os seguintes pares de elementos como analito/padrão interno: Pb/Bi<sup>5,6</sup>, Pb/Tl<sup>6</sup>, Fe/Co<sup>7</sup>, Se/As<sup>42-44</sup>, Se/Ge<sup>44</sup>, Ni/Co<sup>45</sup>, Cd/Ag<sup>46</sup>, Pb/Ag<sup>46</sup> e Sb/As<sup>47</sup>.

Para que um elemento seja selecionado como padrão interno em GFAAS alguns pré-requisitos são necessários<sup>6</sup>:

- 1) Suas propriedades físico-químicas devem ser semelhantes às do analito; ser solúvel tanto nas soluções analíticas como nas amostras; não interferir na determinação do analito<sup>6-7,40</sup>;
  - 2) O padrão interno deve estar presente na amostra em concentração não detectável, isto é, inferior ao limite de detecção da técnica escolhida. Quando o padrão interno estiver presente na amostra em concentração acima do limite de detecção, o ajuste da sua concentração nos brancos, soluções analíticas e amostras é feito após a sua quantificação prévia ou adicionando-o às soluções em altas quantidades tornando a sua concentração original desprezível e invariante;
  - 3) Padrão interno e analito devem ser estabilizados pelo mesmo modificador químico e os processos de atomização e modificação químicos devem ser semelhantes;
  - 4) Padrão interno e analito devem ser afetados de maneira semelhante devido à presença dos concomitantes da amostra e a ao desgaste do atomizador;
  - 5) Padrão interno e analito devem ter comportamento semelhante frente às variações instrumentais e/ou experimentais;
  - 6) A estabilidade térmica do padrão interno deve ser igual ou maior que a do analito.
-

A escolha de um padrão interno em GFAAS não é tarefa simples. Nesses termos, torna-se necessário um estudo sistemático envolvendo a identificação e aplicação de padrões internos para diferentes analitos e amostras.

---

## 1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

De acordo com Radziuk *et al.*<sup>6</sup>, a padronização interna em espectrometria de absorção atômica foi introduzida em 1965 por Massman<sup>25</sup> para reduzir problemas relacionados com a introdução da amostra por nebulização pneumática. No mesmo ano, Butler e Strasheim<sup>28</sup> projetaram e desenvolveram um instrumento de absorção atômica multicanal e empregaram Au como padrão interno na determinação de Cu em ligas metálicas por FAAS. Em 1968, Smith *et al.*<sup>29</sup> usaram Zn e Cr como padrões internos na determinação de Mg, Fe e Pb, ou Al, Cd e Cu, respectivamente, em materiais à base de zinco por FAAS. A estratégia de padronização interna foi também adotada no trabalho de Feldman *et al.* em 1969<sup>30</sup>. Os autores compararam a determinação direta e a padronização interna (Cd, Mn, Cr ou Zn) com respeito à precisão e exatidão na determinação de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Si e Zn em cimentos, ligas metálicas e rações animais por FAAS. No ano seguinte Feldman<sup>33</sup> estudou os principais fatores que afetam o sinal analítico em FAAS e FAES<sup>§</sup>, tais como vazão de ar e combustível, composição da matriz, temperatura e taxa de aspiração. Nesse trabalho demonstrou-se a vantagem da padronização interna para diferentes determinações e enumerou cerca de 23 elementos que podem ser empregados como padrão interno na determinação individual de 18 metais<sup>33</sup>.

Em 1979, Takada e Nakano desenvolveram um espectrômetro multicanal e aplicaram o conceito da padronização interna em espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica para determinar ferro, usando cobalto como padrão interno<sup>7</sup>. Para ilustrar a vantagem da padronização interna, os autores representaram a influência da concentração de potenciais interferentes no sinal atômico de Fe e na razão dos sinais atômicos de Fe e Co. A interferência de cátions em espectrometria de absorção em forno de grafite é comum quando

---

<sup>§</sup> Das iniciais em inglês de Flame Atomic Emission Spectrometry

---

não há separação eficiente da matriz e quando o ambiente não é isotérmico. Com exceção do Ca, para a maioria dos elementos testados, a razão da absorvância entre Fe e Co foi independente do tipo e da quantidade de interferente presente na matriz para até  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ , ou seja, 100 vezes a concentração do analito em solução. Logo, efeitos de matriz puderam ser corrigidos com o uso da padronização interna<sup>7</sup>. Por volta de 1980, as principais dificuldades para generalização do uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica residiam na indisponibilidade de um equipamento comercial que possibilitasse medidas simultâneas ou sequenciais do analito e padrão interno e no escasso conhecimento de regras gerais para a seleção de um padrão interno<sup>6-7,34</sup>.

Takada e Nakano em 1981 avaliaram alguns parâmetros experimentais de modo a elaborar alguns critérios de seleção de padrão interno para FAAS<sup>34</sup>. As mudanças nas condições de atomização e fatores que afetaram a eficiência da atomização foram enfatizadas. Para ilustrar a influência da taxa de aspiração na atomização, os autores selecionaram 14 elementos e introduziram as soluções individuais via nebulizador a diferentes vazões. Quanto mais similar o comportamento entre os dois elementos, maior a probabilidade de serem escolhidos como analito e padrão interno. Assim, demonstrou-se que os pares Cu-Ag, Cd-Zn, In-Tl, Fe-Co, Ni-Co e Ni-Sb, podiam ser escolhidos como padrão interno/analito ou vice-versa. Por outro lado, qualquer elemento selecionado para esse estudo dificilmente seria um bom padrão interno para Mo, Cr e Pb<sup>34</sup>.

Com o desenvolvimento de espectrômetros de absorção atômica multielementar simultâneo em forno de grafite na segunda metade da década de 80, as aplicações em GFAAS aumentaram e o uso da padronização interna ressurgiu. Em 1999 Radziuk *et al.*<sup>6</sup> testaram Tl e Bi como padrões internos na determinação de Pb em amostras de sangue, urina e placenta usando um espectrômetro de absorção atômica multielementar simultâneo equipado com um atomizador de grafite com aquecimento transversal (THGA) e um sistema de correção de



fundo por efeito Zeeman longitudinal. Bismuto apresentou comportamento eletrotérmico semelhante ao do Pb e foi usado para compensar alterações nos sinais atômicos de Pb resultantes da variação da matriz dessas amostras biológicas, melhorando assim o desempenho analítico.

Com o objetivo de expandir o conceito da padronização interna em GFAAS, foi avaliada a aplicação de Bi como padrão interno na determinação de Pb em vinhos<sup>5</sup>. Nesse trabalho investigaram-se vários fatores que usualmente afetam o sinal atômico do analito, tais como comportamento eletrotérmico na ausência ou presença de modificador, erros de diluição, tempo de vida do atomizador, influência na variação das temperaturas de pirólise e de atomização, entre outros.

O uso da PI na determinação simultânea de Pb e Cd em sangue por GFAAS empregando  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico foi avaliada utilizando-se Ag, Bi e Tl como candidatos a padrão interno<sup>46</sup>. A comparação de parâmetros físico-químicos foi utilizada para a seleção dos padrões internos. Gráficos de correlação foram aplicados para uma avaliação quantitativa do desempenho de um padrão interno para um determinado analito, considerando o grau de similaridade entre os dois elementos. Os resultados obtidos a partir dos gráficos de correlação, do desvio padrão relativo das medidas com e sem a PI permitiram concluir que o uso de Ag como padrão interno na determinação de Cd e Pb em sangue foi o mais apropriado. Verificou-se uma melhoria na precisão das medidas de Pb quando a PI foi utilizada, pois os desvios padrão relativos foram 3,6% e 2,2% sem e com a PI, respectivamente. No caso do cádmio o desvio padrão relativo foi igual com e sem PI (13%). Os valores de recuperações foram 81% e 91% para Cd e 80% e 93% para Pb sem e com PI, respectivamente.

Arsênio foi avaliado como padrão interno na determinação de Se em águas minerais gaseificadas por GFAAS utilizando  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  como modificadores químicos. Neste trabalho a PI demonstrou a potencialidade em contornar erros de amostragem causados

---

pelos gases dissolvidos na amostra melhorando a repetibilidade dos resultados, e aumentando em aproximadamente 15% o tempo de vida útil do atomizador<sup>42</sup>.

A padronização interna foi aplicada na determinação de selênio em bebidas de relevância nutricional, tais como leite bovino, leite de soja, leite de coco, sucos de fruta, água de coco e água mineral por GFAAS. Foram utilizados dois tipos de modificadores químicos permanentes: W/Rh e W+ co-injeção de Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Arsênio foi o elemento selecionado como padrão interno e o seu uso minimizou os efeitos de matriz e amostragem provenientes de amostras complexas, no caso, contendo principalmente, gorduras, matéria orgânica e açúcares, melhorando a precisão e a exatidão dos resultados analíticos. O uso dos modificadores permanentes aumentou o tempo de vida útil do atomizador e o uso da etapa de pirólise assistida por ar diminuiu a formação de resíduos carbonáceos no interior do atomizador<sup>43</sup>.

Arsênio e germânio foram avaliados como padrões internos na determinação de Se em leite bovino por GFAAS, utilizando W+co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificadores químicos. Ambos padrões internos relataram a eficiência do uso da PI na minimização dos efeitos de matriz e de amostragem e também na melhoria da precisão e exatidão dos resultados. Gráficos de correlação foram utilizados como uma ferramenta alternativa no auxílio da seleção do padrão interno<sup>44</sup>.

Recentemente, cobalto foi aplicado como padrão interno para contornar erros de amostragem na determinação de níquel em refrigerantes por GFAAS empregando Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico. A PI mostrou-se novamente eficaz na minimização de efeitos causados por gases dissolvidos na amostra, melhorando a precisão e exatidão das medidas<sup>45</sup>.

A padronização interna também foi avaliada na determinação de Sb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite acoplada à geração de hidretos (HG-GF AAS)<sup>§</sup>

---

<sup>§</sup> Das iniciais em inglês de Hydride Generation Coupled to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

---

empregando Ir como modificador químico. Arsênio foi utilizado como padrão interno. Os principais parâmetros que afetam os resultados analíticos foram minimizados e uma contribuição efetiva foi verificada nos estudos de interferências em fase líquida. Cobalto e  $\text{Ni}^{2+}$  foram selecionados para ilustrar o potencial da padronização interna na correção de interferências por metais de transição. A aplicação da PI permitiu a determinação de Sb em amostras contendo altas concentrações de  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Co}^{2+}$ . Os desvios padrão relativos variaram de 0,3-0,7% e de 1,1- 3,2% com e sem a PI, respectivamente. Recuperações entre 92-107% foram encontradas para soluções aquosas contendo Sb (III) e Sb(IV)<sup>47</sup>.

O Quadro 1.1 enumera os trabalhos científicos que aplicaram a padronização interna em espectrometria de absorção atômica.

**Quadro 1.1** Trabalhos envolvendo a padronização interna em espectrometria de absorção atômica

<b>Amostras</b>	<b>Analito</b>	<b>Padrão interno</b>	<b>Processo de atomização</b>	<b>Ano</b>	<b>Ref.</b>
Ligas metálicas	Cu	Au	Chama	1965	28
Zinco para fundição	Al, Cd, Cu, Fe, Mg, Pb	Cr, Zn	Chama	1968	29
Aço	Al, Ni	Cd, Cr	Chama	1969	30
Ligas metálicas	Fe, Cu, Mn, Mg, Cr	Mn, Cd			
Cimento	Ca, Mg, Si	Zn, Cd, Cr			
Ração animal	Ca, Mg	Zn, Cd			
Sangue	Fe	Mn	Chama	1969	31
Soro Sanguíneo	Ca	Sr	Chama	1970	32
Aço	Ni	Cd	Chama	1970	33
Ligas metálicas	Mn, Fe, Mg, Au	Cd, Au/Mn, Cd, Mn			
Cimento	Ca	Sr			
Criolita	Al	Cr			
Sangue	Fe	Au, Mn			
Padrões aquosos	Cu, Cd, In, Fe, Ni	Ag, Zn, Tl, Co, Sb	Chama	1981	34
Água	Fe	Co	Eletrotérmico	1979	7
Sangue urina e placenta	Pb	Bi, Tl	Eletrotérmico	1999	6
Vinho	Pb	Bi	Eletrotérmico	2002	5
Sangue	Cd, Pb	Ag	Eletrotérmico	2004	46
Água mineral gaseificada	Se	As	Eletrotérmico	2004	42
Bebidas	Se	As	Eletrotérmico	2005	43
Leites	Se	As, Ge	Eletrotérmico	2005	44
Refrigerantes	Ni	Co	Eletrotérmico	2005	45
Padrões aquosos	Sb	As	Eletrotérmico/ Geração de hidretos	2005	47

## 2. PROPOSTA DE TRABALHO

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a potencialidade da padronização interna em determinações de elementos-traço (Se e Ni) em bebidas não alcoólicas, por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. Os objetivos específicos foram os seguintes:

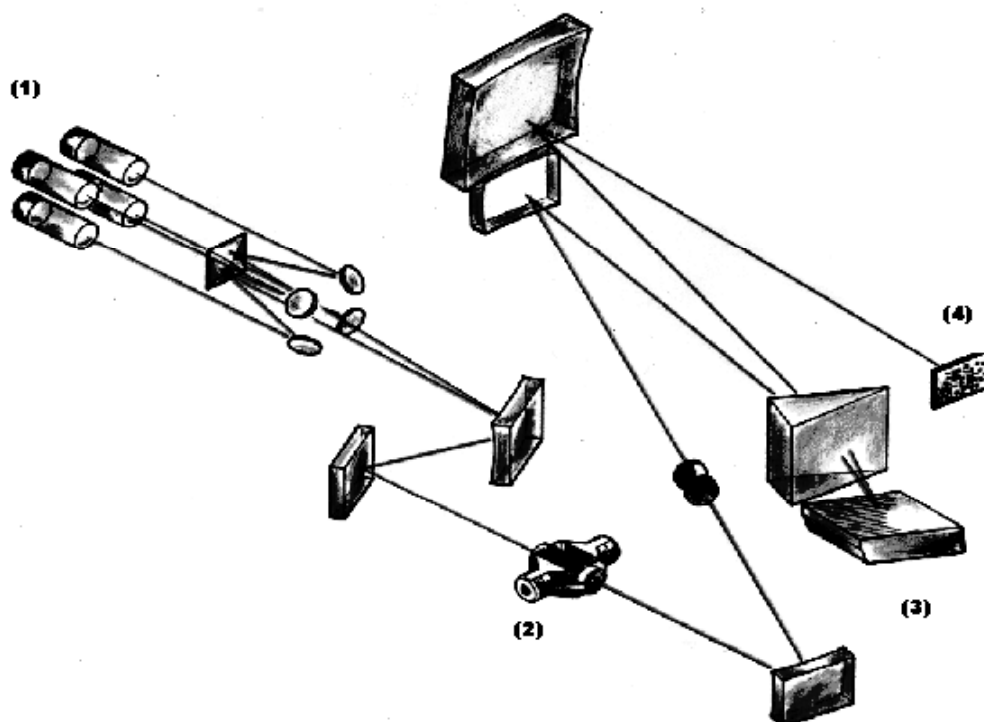
- a) Avaliação de As como padrão interno na determinação de Se em água mineral gaseificada;
  - b) Avaliação de As como padrão interno na determinação de Se em água de coco;
  - c) Avaliação e comparação de As e Ge como padrões internos na determinação de Se em leite;
  - d) Avaliação de Co como padrão interno na determinação de Ni em refrigerante;
  - e) Avaliar em cada situação acima os principais aspectos para uma seleção otimizada de um candidato a padrão interno, tais como avaliação de parâmetros físico-químicos, comportamento eletrotérmico, influência da matriz, influência da concentração do padrão interno, influência do volume injetado, influência da diluição, influência do desgaste da superfície grafítica, gráficos de correlação, precisão e exatidão.
-

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Materiais

##### 3.1.1 Instrumentos e acessórios

O instrumento utilizado foi um espectrômetro de absorção atômica Perkin-Elmer, Modelo SIMAA 6000, equipado com amostrador automático Perkin-Elmer, Modelo AS-72, corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal e tubo de grafite com aquecimento transversal (THGA<sup>h</sup>) e plataforma de L'vov integrada. Os principais componentes desse espectrômetro estão na Figura 3.1.



Fonte : Ref.41

**Figura 3.1** Principais componentes do espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica Perkin-Elmer, Modelo SIMAA 6000. Os números entre parênteses correspondem a (1) lâmpadas HCL<sub>s</sub> ou EDL<sub>s</sub> (2) tubos THGA, (3) sistema óptico e (4) detector de estado sólido.

<sup>h</sup> Das iniciais em inglês de Transversely-Heated Graphite Atomizer

Os feixes de radiação (1), produzidos por até quatro fontes de radiação primárias, são colimados e direcionados por espelhos para o interior do tubo THGA (2), onde ocorrerá a absorção parcial desses feixes por átomos gasosos no estado fundamental. Por meio da fenda de entrada, os feixes de radiação atingem o sistema óptico (3), que consiste num sistema dispersor que possui um prisma e uma grade de difração (rede échelle), capaz de separá-los em função dos diferentes comprimentos de onda selecionados. A separação das diferentes radiações em duas dimensões é registrada por um detector de estado sólido (4), constituído de um arranjo de 60 fotodiodos que permite a detecção simultânea dos feixes de radiação.

As condições operacionais das fontes primárias de radiação, lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL<sup>i</sup>) e lâmpadas de catodo oco (HCL<sup>j</sup>), estão descritas na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1** Condições operacionais das fontes primárias de radiação

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Tipo de lâmpada	Corrente elétrica (mA)	Resolução espectral (nm)
Se	196,0	EDL	290	0,7
As	193,7	EDL	300	0,7
Ge	265,1	HCL	30	0,7
Ni	232,0	HCL	25	0,7
Co	242,5	HCL	30	0,7

Argônio 99,999% (White Martins) foi usado como gás protetor do tubo de grafite e como gás de purga. Durante o programa de aquecimento, a vazão interna de argônio (gás de purga) foi fixada a 250 mL min<sup>-1</sup> para as etapas de secagem, pirólise e limpeza, sendo

<sup>i</sup> Das iniciais em inglês de Electrodeless discharge lamp

<sup>j</sup> Das iniciais em inglês de Hollow cathode lamp

interrompido somente durante a atomização. Esse fluxo interno tem como função principal arrastar vapores formados durante as etapas de secagem, pirólise e limpeza e proteger a superfície interna do tubo. A vazão de argônio utilizada para proteger a superfície externa do tubo de grafite foi fixada pelo fabricante em  $250 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Nos estudos envolvendo as amostras de água de coco, leite e refrigerantes utilizou-se ar sintético (White Martins) para a etapa de pirólise assistida por ar, a uma vazão de  $250 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Sonda ultra-sônica com ponteira de titânio Perkin-Elmer, Modelo USS-100 foi empregada para homogeneização das amostras de água de coco e leite.

### ***3.1.2 Reagentes, soluções e amostras***

Todas as soluções foram preparadas em água desionizada de alta pureza (resistividade  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) em desionizador da marca Millipore Milli-Q Academic™, a partir de água obtida em sistemas de osmose reversa da marca Millipore Rios 5™.

Ácido nítrico Suprapur® Merck foi utilizado para o preparo das soluções analíticas de referência e na diluição das amostras.

A solução estoque de arsênio ( $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) foi preparada pela dissolução de  $1,320 \text{ g}\cdot\text{As}_2\text{O}_3$  (Fluka Chemical) em  $20 \text{ mL}$  de solução  $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH, e posteriormente,  $50 \text{ mL}$  de uma solução  $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl. O volume foi ajustado para  $1000 \text{ mL}$  com água desionizada.

A solução estoque de germânio ( $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) foi preparada em béquer de polipropileno, para evitar perdas de Ge por adsorção em recipientes de vidro, pela dissolução de  $0,1000 \text{ g}$  de  $\text{GeO}_2$  99,999% Aldrich +  $5,0 \text{ mL}$  de HF concentrado e diluição a  $100 \text{ mL}$  de água desionizada<sup>41</sup>.



As soluções estoque de selênio, cobalto e níquel ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) foram preparadas a partir do padrão para absorção atômica Titrisol<sup>®</sup>, Merck.

A solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de modificador químico  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  foi preparada a partir da solução estoque  $10000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  em 15%  $\text{HNO}_3$ , (Perkin-Elmer, Part N° BO190635).

A solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  foi preparada a partir da solução estoque  $10000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  (Perkin-Elmer, Part N° BO190634).

A solução  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  de W foi preparada pela dissolução de 0,1794 g de  $\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) em 100 mL de água desionizada .

A solução  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  de Rh foi preparada a partir do padrão para absorção atômica (Fluka Chemical).

As amostras de água mineral gaseificada, água de coco, leite e refrigerante foram adquiridas em diferentes supermercados da cidade de Araraquara-SP.

### ***3.1.3 Preparo das amostras***

O preparo das amostras de água mineral gaseificada foi feito por meio de injeções sequenciais diretamente no amostrador automático:  $10 \mu\text{L}$  de uma solução multielementar de Se e As em 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  +  $10 \mu\text{L}$  de amostra de água mineral gaseificada +  $5 \mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  +  $3 \mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Para os brancos:  $10 \mu\text{L}$  de uma solução 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  +  $10 \mu\text{L}$  de amostra +  $5 \mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  +  $3 \mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

No caso das amostras de água de coco o preparo das amostras envolveu o seguinte procedimento: um volume de 2,0 mL de água de coco foi dispensado em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, foram adicionadas com auxílio de uma pipeta de volume

---

ajustável (Eppendorf™) alíquotas de soluções monoelementares de Se e As. O volume foi completado com água desionizada e a acidez foi ajustada para 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub> [soluções de Se e As em água de coco (1+4, v/v) em 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub>]. Para os brancos, as alíquotas referentes às soluções monoelementares de Se e As não foram adicionadas.

Para as amostras de leite foi feito o seguinte procedimento: em um balão volumétrico de polietileno de 10 mL foi dispensado um volume de 1 mL de leite. A seguir, com o auxílio da pipeta de volume ajustável, foram adicionadas alíquotas de soluções monoelementares de Se, As e Ge. O volume foi completado com água desionizada e a acidez foi ajustada para 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub> [soluções de Se, As e Ge em leite (1+9) em 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub>]. Para os brancos, as alíquotas referentes às soluções monoelementares de Se, As e Ge não foram adicionadas.

O preparo das amostras de refrigerante foi feita por injeções seqüenciais diretamente no amostrador automático: 10 µL de uma solução multielementar de Ni e Co em 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> + 10 µL de amostra de refrigerante + 3 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Para os brancos: 10 µL de uma solução 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> + 10 µL de amostra + 3 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

### ***3.1.4 Descontaminação e armazenamento***

Os frascos do amostrador automático permaneceram em uma solução 10% (v/v) HNO<sub>3</sub> por 24 h e, em seguida, foram enxaguados abundantemente com água desionizada.

A vidraria e os frascos de armazenagem permaneceram seqüencialmente nos seguintes banhos: solução 5,0% (v/v) de Extran® por 4 h; solução 20% (v/v) HNO<sub>3</sub> por

2 h e solução 10% (v/v) HNO<sub>3</sub> por 24 h. Em seguida, foram lavados abundantemente com água desionizada.

As soluções e as amostras foram armazenadas nos frascos de polietileno descontaminados.

### **3.2 Método**

#### **3.2.1 Avaliação da padronização interna na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite por GFAAS**

Os tópicos seguintes detalham os experimentos feitos para avaliar a potencialidade de As e Ge como padrões internos na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite.

##### **3.2.1.1 Estudo do comportamento eletrotérmico**

A otimização do programa de aquecimento em GFAAS é importante para estabelecer as condições iniciais de trabalho. A semelhança do comportamento eletrotérmico é fundamental para medidas simultâneas, conseqüentemente na aplicação da padronização interna em GFAAS.

As principais etapas de um programa de aquecimento são:

**Secagem:** nesta etapa o solvente é evaporado. Quando se utilizam tubos de grafite THGA, recomenda-se o uso de duas etapas de secagem, a fim de evitar respingos durante o aquecimento do tubo de grafite a temperaturas elevadas. Isso promove a formação de picos duplos e irregulares, levando a imprecisão dos resultados. O solvente de uma alíquota típica de 20 µL pode ser evaporado por uma seqüência combinada de etapas de aquecimento. Na primeira etapa de secagem, a temperatura vai de 25 a 110 °C em 1 s, onde

---

permanece constante por 20 s. Na segunda etapa, a temperatura é elevada de 110 a 130 °C em 5 s, onde permanece constante por 30 s.

Inicialmente, é recomendável otimizar a seqüência de secagem sem o uso do sistema de extração, observando-se a condensação do vapor do solvente em um pequeno espelho, posicionado de forma angular entre os pólos magnéticos e o orifício de injeção. O vapor do solvente deve condensar regularmente por toda superfície do espelho. É importante que nenhum vapor seja observado 5-10 s antes do final da secagem.

**Pirólise:** nesta etapa ocorre a remoção da maior quantidade possível da matriz antes da etapa de atomização, minimizando as interferências químicas e a magnitude do sinal de fundo. Modificadores químicos costumam ser empregados para a estabilização do analito em elevadas temperaturas, tornando a matriz mais volátil para uma etapa de pirólise mais efetiva, sem perdas do sinal de absorbância integrada.

**Atomização:** etapa onde ocorre a formação de átomos gasosos no estado fundamental no interior do tubo de grafite, absorvendo parte da radiação proveniente da fonte. Em seguida, é feita a leitura e a integração da absorbância. A temperatura selecionada nessa etapa deve ser aquela que garanta a máxima atomização do analito e a formação de sinais transientes típicos e repetitivos.

**Limpeza:** etapa na qual, após a atomização, a temperatura é elevada entre 2400 e 2550 °C com o objetivo de eliminar eventuais resíduos no tubo de grafite.

Para avaliar a possível similaridade térmica dos elementos foram construídas curvas de temperatura pirólise e de atomização para As e Se em amostras de água mineral gaseificada, água de coco e leite. Para esse grupo de elementos, fixou-se a temperatura de atomização e variou-se a temperatura de pirólise de 600 até 1800 °C, em intervalos de 200 °C. Selecionada a temperatura de pirólise ótima, variou-se a temperatura de atomização de 1600 a

---

2400 °C, em intervalos de 200 °C, visando otimizar a temperatura de atomização que será comum à esses elementos. A temperatura de limpeza selecionada foi 2550 °C.

Para as amostras de água mineral gaseificada, as curvas de temperatura de pirólise e de atomização para As e Se foram construídas injetando-se 10 µL de uma solução 25 µg L<sup>-1</sup> Se e As (250 pg de Se e 250 pg de As) em 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> + 10 µL de amostra + 5 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. O programa de aquecimento otimizado para Se e As em água mineral gaseificada empregando Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico é apresentado na Tabela 3.2. O tempo de execução do programa foi de 91 s sendo a temperatura de injeção de 20 °C.

**Tabela 3.2** Programa de aquecimento do tubo de grafite para Se e As em água mineral gaseificada empregando o modificador químico Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+ Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

<b>Etapas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de Rampa (s)</b>	<b>Tempo de Patamar (s)</b>	<b>Vazão do gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Leitura do sinal</b>
<b>Secagem</b>	110	5	15	250	Não
<b>Secagem</b>	130	10	20	250	Não
<b>Pirólise</b>	1300	10	20	250	Não
<b>Atomização</b>	2100	< 1,0	5	0	Sim
<b>Limpeza</b>	2550	1	5	250	Não

Para as amostras de água de coco, as curvas de temperatura de pirólise e de atomização de As e Se foram construídas injetando-se 20 µL de uma solução 25 µg L<sup>-1</sup> Se e As (500 pg de Se e 500 de pg As) em água de coco (1+4; v/v) em 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub>. Neste caso, foi utilizado o modificador permanente W/Rh. O recobrimento do atomizador com o modificador permanente W/Rh consistiu de três etapas: i) deposição de tungstênio, ii) tratamento térmico do tungstênio depositado no tubo e iii) deposição do ródio. O programa de aquecimento referente a este recobrimento está indicado na Tabela 3.3 <sup>48</sup>.

**Tabela 3.3** Sequência do programa de recobrimento do atomizador com o modificador químico permanente W/Rh<sup>48</sup>.

Passos	Ações e Parâmetros
<b>Deposição do W</b>	
<b>1</b>	Pipetar 50 µL de uma solução 1,0 g L <sup>-1</sup> de W sobre o atomizador.
<b>2</b>	Seguir o programa de aquecimento (rampa, patamar) para a secagem e pirólise: 120°C (5, 25s); 150 °C (10, 60s); 600 °C (20, 15s) e 1000 °C (10, 15s).
<b>3</b>	Repetir os passos 1 e 2 três vezes.
<b>4</b>	Repetir o passo 1 e seguir o programa de aquecimento (rampa, patamar): 120 °C (5, 25s); 150 °C (10, 60s); 600 °C (20, 15s), 1000 °C (10, 15s), 1400 °C (10, 5s), 2000 °C (3, 2s) e 2100 °C.
<b>Tratamento térmico do W</b>	
<b>5</b>	Repetir por quatro vezes o programa de aquecimento para o condicionamento do carvão de W à média temperatura (rampa, patamar): 150 °C (1, 10s), 600 °C (10, 15s), 1100 °C (10, 5s), 1400 °C (10, 10s).
<b>6</b>	Repetir por quatro vezes o programa de aquecimento para o condicionamento do carvão de W à alta temperatura: 150 °C (1, 1, 0s), 600 °C (10, 15s), 1100 °C (10, 5s), 1400 °C (10, 10s), 1500 °C (3, 5s), 1600 °C (1, 1s), 1700 °C (1, 1s), 1800 °C (1, 1s), 1900 °C (1, 1s) e 2000 °C (1, 1s).
<b>Deposição do Rh</b>	
<b>7</b>	Pipetar 50 µL de uma solução 1,0 g L <sup>-1</sup> de Rh sobre o atomizador.
<b>8</b>	Seguir o programa de aquecimento (rampa, patamar) para a secagem e pirólise: 120 °C (1, 10-25s), 150 °C (5, 30-60s), 1000 °C (10, 10s), 1400 °C (1, 5s) e 2000 °C (1, 3s).
<b>9</b>	Repetir os passos 7 e 8 três vezes
<b>10</b>	Repetir o passo 7 e seguir o programa de aquecimento (rampa, patamar): 120 °C (1, 25s), 150 °C (5, 60s), 1000 °C (10, 10s), 1400 °C (1, 5s) e 2000 °C (1, 3s).

O programa de aquecimento usado nas medidas de Se e As em água de coco empregando W/Rh como modificador é indicado na Tabela 3.4. Foi aplicada uma etapa pirólise assistida por ar para remoção de resíduos carbonáceos do interior do tubo de grafite. O tempo de execução do programa foi de 191 s sendo a temperatura de injeção de 20 °C.

**Tabela 3.4** Programa de aquecimento do tubo de grafite para Se e As em água de coco na presença do modificador químico permanente W/Rh.

<b>Etapas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de Rampa (s)</b>	<b>Tempo de Patamar(s)</b>	<b>Vazão do gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Leitura do sinal</b>
<b>Secagem</b>	110	5	15	250 (Ar)	Não
<b>Secagem</b>	130	15	15	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	600	20	40	250 (ar)	Não
<b>Purga</b>	20	1	40	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	1300	10	20	250 (Ar)	Não
<b>Atomização</b>	2200	< 1,0	4	0	Sim
<b>Limpeza</b>	2550	1	5	250 (Ar)	Não

Para as amostras de leite, as curvas das temperaturas de pirólise e de atomização foram construídas injetando-se 20 µL de uma solução 50 µg L<sup>-1</sup> Se, As e Ge (1 ng de Se, As e Ge) em leite (1+9; v/v) em 1,0%(v/v) HNO<sub>3</sub> + 5 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W. O recobrimento do atomizador com tungstênio consistiu na deposição de tungstênio seguida do tratamento térmico do tubo de grafite, conforme o programa de aquecimento já descrito na Tabela 3.3<sup>48</sup>. O programa de aquecimento utilizado nas medidas de Se, As e Ge em leite empregando W + Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico é apresentado na Tabela 3.5. A etapa de pirólise assistida por ar em 600 °C foi utilizada para evitar a formação de resíduos carbonáceos no tubo de grafite. O tempo de execução do programa foi de 191 s sendo a temperatura de injeção de 20 °C.

**Tabela 3.5** Programa de aquecimento do tubo de grafite para As, Ge e Se em leite na presença de W+ co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificadores químicos.

<b>Étapas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de Rampa (s)</b>	<b>Tempo de Patamar(s)</b>	<b>Vazão do gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Leitura do sinal</b>
<b>Secagem</b>	110	5	15	250 (Ar)	Não
<b>Secagem</b>	130	10	20	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	600	20	40	250 (ar)	Não
<b>Purga</b>	20	1	40	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	1300	10	20	250 (Ar)	Não
<b>Atomização</b>	2200	< 1,0	4	0	Sim
<b>Limpeza</b>	2550	1	5	250 (Ar)	Não

### ***3.2.1.2 Efeito da concentração do padrão interno na correção do sinal analítico***

Foram preparadas amostras de água mineral gaseificada contendo 0,00; 5,00 e 25,0 µg L<sup>-1</sup> As em 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub>. Estas serviram para simular amostras que continham níveis naturais de As. Em cada um destes casos, estudou-se o efeito da adição de 25 µg L<sup>-1</sup> e 500 µg L<sup>-1</sup> As como padrão interno na correção do sinal analítico de Se (10,00 – 40,0 µg L<sup>-1</sup>).

### ***3.2.1.3 Influência da matriz na absorbância***

Neste experimento foi avaliada a influência das matrizes de água mineral gaseificada, água de coco e de leite nas absorbâncias de Se, As e Ge com e sem o uso da padronização interna.

O gráfico da influência da matriz na absorbância para 10 amostras de água mineral gaseificada foi obtido injetando-se 10 µL de uma solução 25 µg L<sup>-1</sup> Se e 10 µg L<sup>-1</sup> As em 0,2 % (v/v) HNO<sub>3</sub> + 10 µL de amostra + 5 µL de solução 1000 mg L<sup>-1</sup> Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3 µL



de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Mg(NO}_3)_2$ . Os brancos foram obtidos injetando-se  $10 \text{ }\mu\text{L}$  de solução  $0,2 \text{ \% (v/v) HNO}_3$  +  $10 \text{ }\mu\text{L}$  de amostra +  $5 \text{ }\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pd(NO}_3)_2$  +  $3 \text{ }\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Mg(NO}_3)_2$ .

De forma semelhante, o gráfico da influência da matriz na absorvância para 10 amostras de água de coco foi obtido injetando-se  $20 \text{ }\mu\text{L}$  de uma solução  $25 \text{ }\mu\text{g L}^{-1} \text{ Se}$  e  $10 \text{ }\mu\text{g L}^{-1} \text{ As}$  em água de coco (1+4; v/v) em  $1,0\% \text{ (v/v) HNO}_3$  sobre a plataforma do tubo pré-tratada com modificador permanente W/Rh. Os brancos foram obtidos injetando-se  $20 \text{ }\mu\text{L}$  de solução diluída em água de coco (1+4; v/v) em  $1,0\% \text{ (v/v) HNO}_3$ .

Nas amostras de leite integral, semi-desnatado e desnatado foram construídas curvas analíticas injetando-se  $20 \text{ }\mu\text{L}$  de soluções contendo  $5,0$ ;  $10,0$ ;  $20,0$  e  $40,0 \text{ }\mu\text{g L}^{-1} \text{ Se}$  +  $500,0 \text{ }\mu\text{g L}^{-1} \text{ As}$  e  $\text{Ge}$  nos diferentes tipos de leites (1+9; v/v) em  $1,0 \text{ \% (v/v) HNO}_3$ . Os brancos foram obtidos injetando-se  $20 \text{ }\mu\text{L}$  dos diferentes tipos de leites (1+9; v/v) em  $1,0 \text{ \% (v/v) HNO}_3$ . Todas as injeções precediam de adição de  $5 \text{ }\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pd(NO}_3)_2$  sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W.

#### ***3.2.1.4 Gráficos de correlação***

A avaliação do desempenho de padrões internos em ICP-OES é comumente feita por meio de gráficos de correlação. Esses são construídos a partir dos sinais normalizados do padrão interno em função dos sinais normalizados do analito<sup>12</sup>. Os parâmetros obtidos a partir da regressão linear dos gráficos de correlação (coeficiente de correlação, coeficiente linear e coeficiente angular) facilitam a visualização das respostas em medidas consecutivas e permitem comparar a eficiência de diferentes elementos utilizados como padrões internos:

- a) O coeficiente de correlação ( $r$ ) reflete o grau de similaridade entre as variações dos sinais do analito e do padrão interno. O valor ideal para o coeficiente de correlação nesse gráfico é 1,0000.
- b) Coeficiente linear ( $a$ ) indica a existência de erros sistemáticos na padronização interna, isto é confirmado somente quando o valor obtido para o coeficiente linear for diferente de zero.
- c) Coeficiente angular ( $b$ ) avalia a semelhança entre a amplitude das variações dos sinais analíticos do analito e do padrão interno. As variações de intensidade observadas devem ser proporcionais e, caso isto seja verificado, o coeficiente angular será igual a 1. Valores diferentes de 1 indicam que a correção dos resultados não é eficiente, mostrando que o padrão interno e o analito são afetados de maneiras diferentes às variações físico-químicas e instrumentais<sup>12</sup>.

Os gráficos de correlação foram obtidos a partir de 20 injeções consecutivas de 20  $\mu\text{L}$  de uma solução  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se +  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge ( $500 \text{ pg}$  de Se,  $10 \text{ ng}$  de Ge e  $10 \text{ ng}$  de As) preparada em leite (1+9; v/v) contendo 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  +  $5 \mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W. As absorvâncias obtidas para cada elemento foram normalizadas em relação ao primeiro valor da série de medidas, obtendo-se desta forma os valores normalizados de absorvância tanto para o analito como para os respectivos candidatos a padrões internos. Foram construídos dois gráficos de correlação a partir dos valores normalizados de absorvância, onde nas abcissas os dados referem-se ao Se e nas ordenadas os dados referem-se ao As e Ge.

Para uma avaliação estatística dos resultados, utilizou-se o coeficiente de correlação de Person  $r$  para verificar a existência de uma relação linear entre as duas variáveis analisadas, no caso, analito e padrão interno<sup>40, 49-51</sup>.

O teste  $F$  foi usado para comparar as variâncias dos resultados com e sem o uso da PI<sup>40, 49-51</sup>.

### ***3.2.1.5 Efeito da variação do volume injetado na absorbância***

Este estudo foi feito injetando-se 5, 10 e 20  $\mu\text{L}$  de solução  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se + 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge em leite (1+9; v/v) contendo 1,0 % (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 5  $\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W.

### ***3.2.1.6 Efeito da diluição da amostra na repetibilidade***

Injetou-se alíquota de 20  $\mu\text{L}$  de solução  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se + 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge preparada em leite em diferentes diluições (1+9, 1+4 e 1+1; v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 5  $\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W.

### ***3.2.1.7 Estudo comparativo da repetibilidade do método proposto com método já existente na literatura para a determinação de Se em águas de coco***

Comparou-se, por meio deste estudo, o desempenho do método proposto com o de outro método existente na literatura<sup>52</sup>. Os métodos avaliados foram:

- 1) determinação direta, utilizando CFA-C (mistura de aminas terciárias)<sup>52</sup>.
- 2) determinação direta, sem o uso da padronização interna e da etapa de pirólise assistida por ar.

- 3) determinação direta, com o uso da padronização interna e da etapa de pirólise assistida por ar.

Para cada um dos casos avaliados, foram feitas vinte injeções sucessivas de 20  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  As em água de coco (1+4; v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  sobre a plataforma do tubo pré-tratada com modificador permanente W/Rh. O desvio padrão relativo permitiu avaliar a eficácia da padronização interna, e inferir sobre a formação e o acúmulo de resíduos carbonáceos no interior do tubo de grafite.

### ***3.2.1.8 Influência do desgaste da superfície grafítica na absorvância***

Este estudo foi feito injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  As em 0,2 %  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de água mineral gaseificada + 5  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . O comportamento do desgaste da superfície grafítica na absorvância foi observado ao longo de sucessivos ciclos de aquecimentos.

### ***3.2.1.9 Teste de adição e recuperação de analito***

Para verificar a exatidão e precisão dos métodos propostos foram utilizados testes de adição e recuperação de analito com e sem a padronização interna.

Em 10 amostras de água mineral gaseificada foram feitas determinações de Se injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  As em 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 5  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Os brancos foram obtidos injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de solução 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10

$\mu\text{L}$  de amostra + 5  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

Em 10 amostras de água de coco foram feitas determinações de Se injetando-se 20  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  As em água de coco (1+4, v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  sobre a plataforma do tudo pré-tratada com modificador permanente W/Rh. Os brancos foram obtidos injetando-se 20  $\mu\text{L}$  de solução diluída em água de coco (1+4; v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$ .

Para 10 amostras de leite foram feitas determinações de Se injetando-se 20  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge em leite (1+9; v/v) em 1,0%(v/v)  $\text{HNO}_3$ . Os brancos foram obtidos injetando-se 20  $\mu\text{L}$  das amostras diluídas em leite (1+9, v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$ . Todas as injeções precediam da adição de 5  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  sobre a plataforma pré-tratada com modificador permanente W. Neste caso, foram analisados dois materiais de referência certificados da NIST Whole Milk Powder e 1549 Non-Fat Milk Powder). (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA, 8435).

Os resultados dos testes de adição e recuperação foram avaliados estatisticamente. Por meio do teste F foram comparadas as variâncias com e sem o uso da PI. A concordância entre as médias foi verificada pelo teste *t* de Student<sup>49-51</sup>.

Os limites de detecção ( $\text{LOD}^1$ ) foram calculados de acordo com a Equação 1:

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot \text{SD}_{\text{branco}}}{b} \quad (1)$$

Onde:

$\text{SD}_{\text{branco}}$  = desvio padrão das medidas obtidas para o branco analítico

$b$  = coeficiente angular da curva analítica de calibração

---

<sup>1</sup> Das iniciais em inglês de Limit of Detection

---

A massa característica ( $m_o$ ) que corresponde à quantidade de analito capaz de absorver 1% da radiação incidente foi calculada a partir das curvas de calibração.

### ***3.2.2 Avaliação de Co como padrão interno na determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS***

#### ***3.2.2.1 Estudo do comportamento eletrotérmico***

As curvas de temperatura de pirólise e de atomização foram construídas injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de solução 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni e Co (500 pg de Ni e 500 pg de Co) contendo 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Os procedimentos adaptados para a obtenção das curvas de pirólise e de atomização foram os seguintes: fixou-se uma temperatura de atomização e variou-se a temperatura de pirólise de 600 até 1800  $^\circ\text{C}$ , em intervalos de 200  $^\circ\text{C}$ . Após a seleção da temperatura de pirólise ótima, variou-se a temperatura de atomização de 1600 a 2400  $^\circ\text{C}$ , em intervalos de 200  $^\circ\text{C}$ . A temperatura ótima de atomização é comum aos 2 elementos (assim como a temperatura de pirólise). A etapa de limpeza do tubo de grafite foi feita a uma temperatura de 2550  $^\circ\text{C}$ .

O programa de aquecimento utilizado nas medidas de Ni e Co, empregando o modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , é apresentado na Tabela 3.6. A etapa de pirólise assistida por ar a 600  $^\circ\text{C}$  promoveu a remoção de resíduos carbonáceos do tubo de grafite. A temperatura de injeção de 20  $^\circ\text{C}$  e o tempo de execução do programa foi de 187 s .

**Tabela 3.6** Programa de aquecimento utilizado nas medidas de Ni e Co em refrigerantes usando  $Mg(NO_3)_2$  como modificador

<b>Etapas</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo de Rampa (s)</b>	<b>Tempo de Patamar (s)</b>	<b>Vazão do gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Leitura do sinal</b>
<b>Secagem</b>	110	5	15	250 (Ar)	Não
<b>Secagem</b>	130	10	15	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	600	20	40	250 (ar)	Não
<b>Purga</b>	20	1	40	250 (Ar)	Não
<b>Pirólise</b>	1400	10	20	250 (Ar)	Não
<b>Atomização</b>	2300	< 1,0	5	0	Sim
<b>Limpeza</b>	2550	1	5	250 (Ar)	Não

### 3.2.2.2 *Influência da matriz na absorvância*

Neste experimento foi avaliada a influência da matriz de refrigerantes nas absorvâncias de Ni e Co com e sem a PI. Foram injetados 10  $\mu\text{L}$  de uma solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni + 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co contendo 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Os brancos foram obtidos injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de solução contendo 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

### 3.2.2.3 *Efeito da variação do volume injetado na absorvância*

Este estudo foi feito injetando-se 5, 10 e 20  $\mu\text{L}$  de amostra + 10  $\mu\text{L}$  de solução 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co em 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 3  $\mu\text{L}$  de solução 1000  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

### 3.2.2.4 Gráfico de correlação

O gráfico de correlação foi obtido a partir de 20 medidas sucessivas de 10  $\mu\text{L}$  de uma solução  $25 \mu\text{g L}^{-1} \text{Ni} + 50 \mu\text{g L}^{-1} \text{Co}$  (250 pg de Ni e 500 pg de Co) contendo 0,2 % (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{mg L}^{-1} \text{Mg} (\text{NO}_3)_2$ . As absorvâncias obtidas para cada elemento foram normalizadas em relação ao primeiro valor da série de medidas, tanto para o analito como para o padrão interno. Posteriormente, construiu-se um gráfico de correlação a partir das absorvâncias normalizadas, na abcissa os dados referentes a Ni e na ordenada os dados referentes a Co.

Para uma confirmação estatística dos resultados, utilizou-se o coeficiente de correlação de Person  $r$ , que permitiu verificar a existência de uma relação linear entre as duas variáveis analisadas (no caso, Ni e Co)<sup>40, 49-51</sup>.

O teste  $F$  foi usado para comparar as variâncias dos resultados com e sem o uso da PI<sup>40, 49-51</sup>.

### 3.2.2.5 Teste de adição e recuperação de analito

Em 10 amostras de refrigerantes foram feitas determinações de Ni injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de uma solução  $25 \mu\text{g L}^{-1} \text{Ni} + 50 \mu\text{g L}^{-1} \text{Co}$  contendo 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{mg L}^{-1} \text{Mg} (\text{NO}_3)_2$ . Os brancos analíticos foram obtidos injetando-se 10  $\mu\text{L}$  de solução contendo 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  + 10  $\mu\text{L}$  de amostra + 3  $\mu\text{L}$  de solução  $1000 \text{mg L}^{-1} \text{Mg} (\text{NO}_3)_2$ . Por meio do teste  $F$  avaliou-se a existência de diferenças significativas entre as variâncias com e sem o uso da PI. A concordância entre as médias foi verificada pelo teste  $t$  de Student<sup>50-52</sup>.

O limite de detecção e a massa característica foram calculados.

---



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *4.1 Avaliação da padronização interna na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite por GFAAS*

#### *4.1.1 Problemas analíticos encontrados nas amostras selecionadas*

O selênio é um elemento essencial ou tóxico para homens e animais dependendo da concentração na qual é administrado, e está envolvido em um grande número de processos biológicos no corpo humano, como, por exemplo, na formação da selenocisteína que faz parte do sítio ativo da enzima antioxidante glutatona peroxidase e como agente inibidor do efeito tóxico de metais pesados (Hg). A sua deficiência é responsável por cardiomiopatias, distrofia muscular e desordens na reprodução de várias espécies animais<sup>53</sup>.

Os níveis, as espécies e a biodisponibilidade de Se em alimentos depende do ambiente geoquímico onde são produzidos. Uma variação nas condições geoquímicas pode não somente provocar doenças em animais, mas também influenciar na concentração de Se nos seres humanos. Por esta razão há um grande interesse no monitoramento dos níveis de Se em alimentos<sup>52-53</sup>.

Na legislação brasileira, segundo a portaria SVS/MS nº 685 de 27 de agosto de 1998, o teor máximo permissível de Se em alimentos sólidos é de 0,30 mg L<sup>-1</sup>, e para alimentos líquidos é de 0,05 mg L<sup>-1</sup>.

Estudos prévios com amostras de águas minerais gaseificadas indicaram problemas de amostragem e de repetibilidade causados pela presença de gases dissolvidos.

A matriz de água de coco é bem complexa, contém desde sais minerais em altas concentrações a açúcares e gorduras, podendo causar erros nas medidas. O acúmulo de material no capilar do auto-amostrador pode alterar o volume da amostra aspirada a ser

---

injetada no atomizador. Outro problema observado foi o acúmulo de resíduos carbonáceos na plataforma do tubo de grafite, obstruindo grande parte da radiação da fonte, e impedindo as medidas devido ao alto sinal de fundo. Outro ponto que merece destaque é que a matriz de água de coco reduz a vida útil do tubo de grafite<sup>52</sup>.

A composição química do leite bovino é bem variada contém proteínas, carboidratos, gorduras mono e polisaturadas, colesterol, além de espécies inorgânicas como Na, K, Ca, Mg, Fe, P, Mn, Zn, Cu<sup>54,55</sup>. A determinação de elementos-traço em leite bovino pode não ser tarefa simples em função do leite bovino conter aproximadamente 3,4% de proteínas, 2,8% de caseína, 3,7% de gorduras totais e 4,6% de lactose, e a presença destes constituintes pode afetar diretamente a determinação. Muitos procedimentos descritos na literatura utilizam digestão para a eliminação da matriz orgânica. Esse tipo de procedimento por envolver várias etapas, aumenta os riscos de contaminação ou perda, prejudicando a qualidade dos resultados<sup>56,57</sup>.

Procedimentos analíticos envolvendo diferentes técnicas espectroanalíticas foram propostos para determinações diretas de elementos-traço em leite, porém algumas dificuldades foram encontradas. Em GFAAS, a presença de gorduras afetou diretamente o desempenho do amostrador automático; e a formação de resíduos carbonáceos gerou a degradação e a conseqüente diminuição da vida útil do atomizador. Para ICP-OES e ICP-MS, a presença de gorduras comprometeu o desempenho da nebulização pneumática; e a formação de resíduos carbonáceos afetou as condições de excitação de íons moleculares contendo carbono.<sup>56-62</sup>

Para contornar os problemas de amostragem e de matriz em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite várias alternativas foram propostas. As amostras de leite foram diluídas em soluções contendo ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, no intuito da remoção da matéria orgânica durante o aquecimento do tubo de grafite<sup>63</sup>. A adição de agentes

---

surfactantes como Triton X-100<sup>64-66</sup>, e mais recentemente, uma mistura de aminas terciárias (CFA-C)<sup>56</sup> foi utilizada para contornar os problemas de amostragem.

Experimentos preliminares em nosso laboratório revelaram sérias limitações da calibração por compatibilização de matriz na determinação direta de selênio em diferentes tipos de leite (integral, desnatado e semi-desnatado). Além dos efeitos de matriz, que afetam a qualidade do resultado analítico, amostras heterogêneas podem afetar a qualidade da amostragem se houver variação na quantidade de analito selecionada via pipeta do amostrador automático<sup>48</sup>. Como consequência, se a massa do analito no tubo de grafite variar, a precisão ou mesmo a exatidão das medidas ficará prejudicada.

O uso da padronização interna pode ser uma alternativa simples para contornar os efeitos de amostragem e de matriz na determinação direta de amostras heterogêneas, tais como, água mineral gaseificada, água de coco e leite bovino por GFAAS.

Germânio e arsênio foram escolhidos como possíveis padrões internos na determinação de Se por GFAAS por apresentarem propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, um dos pré-requisitos principais para que um elemento seja candidato a padrão interno.

#### *4.1.2 Parâmetros físico-químicos*

A escolha do padrão interno é feita considerando-se principalmente as propriedades físico-químicas dos elementos envolvidos: número atômico, massa molar, temperatura de fusão, temperatura de ebulição, calor de vaporização, energia de ativação para a atomização de óxidos, energia de dissociação do analito à partir do óxido e do cloreto. Selênio, arsênio e germânio possuem propriedades físico-químicas semelhantes (Tabela 4.1),

---

sugerindo que a padronização interna apresente algum potencial de aplicação na determinação de Se em água mineral gaseificada, água de coco e leite por GFAAS.

---

**Tabela 4.1** Parâmetros físico-químicos dos elementos Ge, As e Se e de seus respectivos óxidos e cloretos <sup>67</sup>.

<b>Parâmetros</b>	<b>Ge</b>	<b>As</b>	<b>Se</b>
<b>Número atômico</b>	32	33	34
<b>Massa atômica</b>	73	75	79
<b>Ponto de fusão (°C)</b>	937	817	217
<b>Ponto de ebulição (°C)</b>	2830	613	685
<b>Calor de vaporização (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	376	315	231
<b>Modificador Químico</b>	Pd + Mg	Pd + Mg	Pd + Mg
<b>Temperatura de pirólise (°C)</b>	1500	1200	1300
<b>Temperatura de atomização (°C)</b>	2300	2000	1900
	<b>GeO</b>	<b>As<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>SeO<sub>2</sub></b>
<b>Energia de ativação para atomização do elemento a partir do óxido (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	-	-	-
<b>Energia de dissociação de MO<sub>(g)</sub> (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	674	493	422
<b>Ponto de fusão do MO<sub>(s)</sub> (°C)</b>	710	315	340-350
<b>Ponto de ebulição do MO<sub>(l)</sub> (°C)</b>	-	-	315-317
	<b>GeCl<sub>4</sub></b>	<b>As<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub></b>	<b>Se<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub></b>
<b>Energia de dissociação de MCl<sub>(g)</sub> (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	343	-	-
<b>Ponto de fusão do MCl<sub>(s)</sub> (°C)</b>	-50	-8,5	-85
<b>Ponto de ebulição do MCl<sub>(l)</sub> (°C)</b>	84	130	130

Além desses parâmetros citados na Tabela 4.1, os processos de atomização e de modificação química dos elementos são de extrema relevância. Quanto maior a semelhança entre os precursores atômicos do analito e padrão interno, maior a semelhança entre os mecanismos de atomização e de modificação química. Assim, as possibilidades de correção dos efeitos provocados pela interferência química causada pela matriz na fase condensada serão maiores, pois os processos de formação dos precursores são similares e afetados de maneira semelhante pelos concomitantes da matriz.

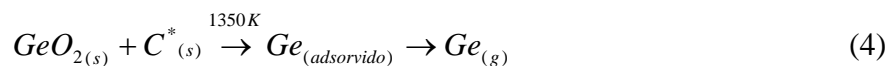
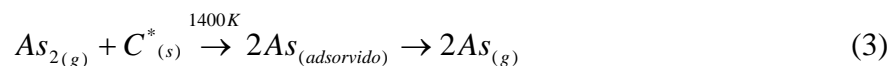
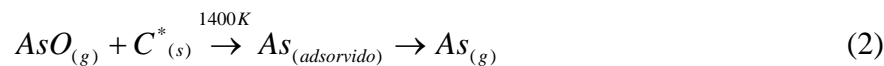
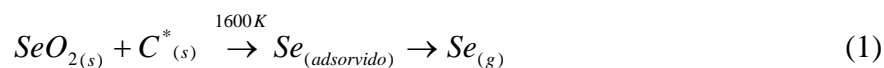
Os processos de atomização podem ser explicados conhecendo-se as propriedades físico-químicas, dados cinéticos a partir de gráficos de Arrhenius, temperaturas de aparecimento do sinal de absorção atômica.

Quando um óxido é formado pela decomposição de um nitrato ou sulfato, ou pela hidrólise de um cloreto<sup>68-70</sup>, os mecanismos de atomização podem ser descritos por dois caminhos distintos:

- 1) dissociação térmica do óxido metálico
- 2) redução do óxido no atomizador pela superfície grafítica, seguida da vaporização do metal

No último caso há a formação de átomos gasosos e é controlado pela energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) da reação de redução na superfície grafítica. Quando  $\Delta G < 0$ , a reação é termodinamicamente favorável. Porém, quando as reações de redução são rápidas, a redução do metal pode ocorrer pela vaporização direta. No caso das reações ocorrerem lentamente, a atomização ocorrerá pela dissociação do óxido do metal.

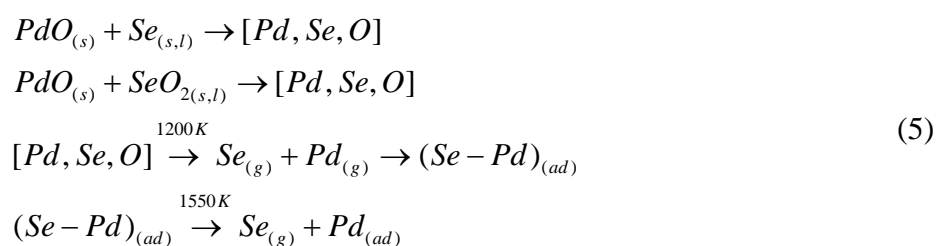
Os mecanismos de atomização de selênio, arsênio e germânio propostos na literatura<sup>2,71-73</sup> ocorrem por meio da redução do óxido no forno pela superfície grafítica, descritos nas equações (1), (2), (3) e (4):

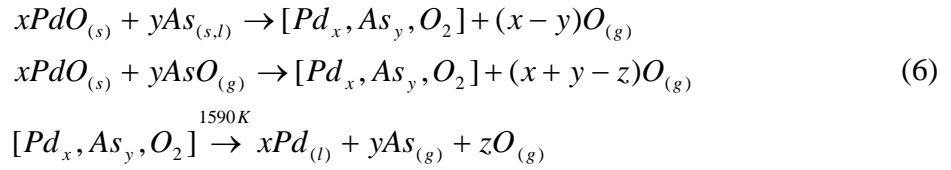


Os mecanismos de modificação química são importantes e suas semelhanças devem ser observadas para a escolha de um possível padrão interno. Na avaliação de As e Ge como padrões internos na determinação de bebidas não alcoólicas por GFAAS foram testados três tipos de modificadores químicos: Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (água mineral gaseificada), W/Rh (água de coco) e W+ co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (leite bovino).

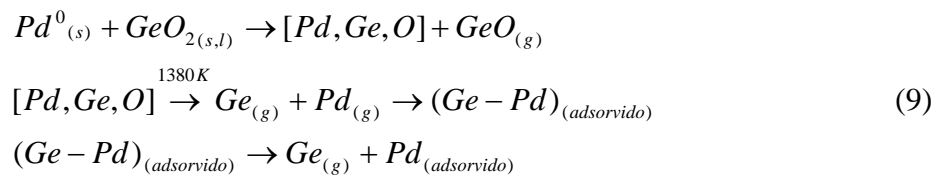
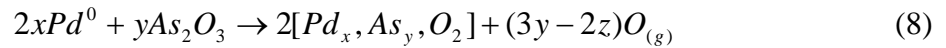
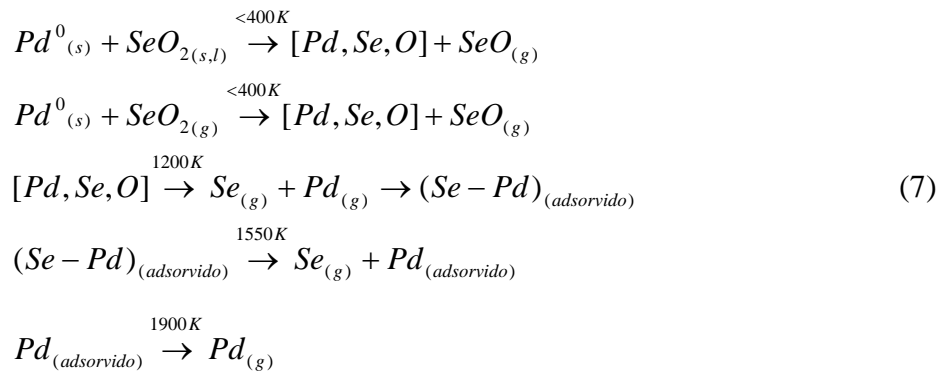
Os mecanismos de modificação química utilizando Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> para os elementos selênio, arsênio e germânio, propostos pela literatura<sup>72-76</sup>, seguem dois caminhos distintos:

- 1) paládio introduzido juntamente com o metal nas soluções dentro do atomizador, conforme ilustrado nas equações (5) e (6) :





2) estabilização do metal por Pd<sup>0</sup>, conforme equações (7), (8) e (9):



Observando-se as equações descritas acima, a mistura Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> atende aos requisitos de proporcionar ao As, Ge e Se as mesmas vias de atomização e modificação química, capacitado-o como modificador potencial no estudo de As e Ge como padrões internos na determinação de Se em águas minerais gaseificadas.

Contudo, há a possibilidade dos mecanismos de atomização do analito e padrão interno serem diferentes para um determinado modificador químico, mas serem semelhantes



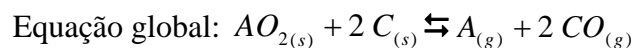
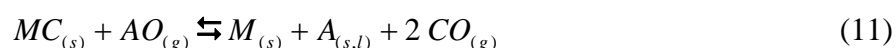
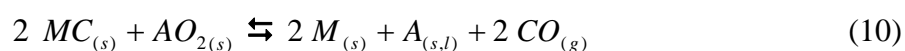
para outros. Para verificar esta possibilidade, foram avaliados o modificador químico permanente W/Rh e o modificador químico permanente W seguido de co-injeção de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ , no intuito de verificar se a presença de um filme de oxi-carbeto sobre a plataforma altera significativamente a eficiência da padronização interna, devido à variação no mecanismo de atomização/modificação.

Os modificadores permanentes oferecem um melhor controle sobre algumas situações desfavoráveis impostas pelos modificadores convencionais. Os programas de aquecimento são mais rápidos; durante a deposição do modificador na superfície do tubo de grafite as impurezas voláteis do modificador podem ser eliminadas, melhorando os limites de detecção; entre outros<sup>77</sup>. O modificador químico é introduzido no tubo de grafite, submetido a um tratamento térmico adequado, promovendo a modificação da superfície gráfrica previamente à amostragem<sup>78</sup>. Se a temperatura de atomização utilizada for menor do que a temperatura de vaporização do modificador, diversas amostragens podem ser feitas com uma única modificação do tubo de grafite, tornando possível à execução de vários ciclos de aquecimento antes que um outro procedimento seja efetuado<sup>77</sup>.

Cerca de 16 elementos são considerados modificadores permanentes em potencial: os metais nobres com altas temperaturas de vaporização (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru), os elementos formadores de carbeto (B, Hf, Mo, Nb, Si, Re, Ta, Ti, V, W, Zr).

Aplicações de modificadores permanentes em amostras reais em determinações multielementares diretas por GFAAS foram pouco exploradas até o momento. Para uma melhor estabilização térmica de analitos voláteis, preferencialmente são utilizados modificadores de metais nobres de baixa volatilidade (Ir, Rh, Ru) individualmente ou junto a metais formadores de carbeto (W, Zr), formando os pares W-Ir<sup>79</sup>, W-Ru<sup>80</sup>, W-Rh<sup>81-83</sup> e Zr-Ir<sup>84,85</sup>.

No caso dos carbetos de metais de W, Zr, Ti, Ta, Nb, Mo, as equações (10) a (13) descrevem o mecanismo de ação dos carbetos na redução do óxido de um analito genérico A <sup>86-90</sup>:



O óxido do analito pode ser reduzido tanto homoganeamente (10) ou heterogeneamente (11) pelo carbeto metálico, originando o analito em fase condensada, que é posteriormente vaporizado, originando átomos livres do analito (12). Numa etapa seguinte (13) no ciclo catalítico o carbeto metálico é regenerado<sup>86</sup>.

No caso dos metais formadores de carbetos, o W tem sido o mais usado como modificador em ETAAS para diferentes elementos. A estabilização térmica do analito ocorre através das interações entre as várias espécies de W formadas no atomizador de grafite, como por exemplo, formação de compostos de W com o analito<sup>81</sup>.

A combinação de Rh em superfícies gráficas tratadas anteriormente com W apresentou resultados promissores: Cd, Pb e Se em águas<sup>81</sup>, Cd em amostras de peixes<sup>82</sup>, Pb

em sedimentos <sup>91</sup>, Bi em urina e sangue <sup>92</sup>, Cd, Cu e Pb em amostras biológicas e sedimentos <sup>83,93</sup>, As em sedimentos e solos <sup>94</sup> e Cu em água do mar<sup>95</sup>. Esse modificador químico também foi explorado na determinação multielementar simultânea de Al, As, Cu, Fe, Mn e Ni em álcool combustível <sup>96</sup> e de Al, As, Fe, Mn e Ni em aguardente<sup>97</sup>.

O mecanismo de ação do modificador químico permanente W/Rh foi pouco estudado, mas há algumas propostas na literatura que contemplam a redução do óxido do analito pela superfície grafítica catalisada por WC, seguida da formação de compostos de intercalação ou amálgama entre o analito e o Rh; por fim, a atomização ocorreria por meio da dissociação da intercalação ou difusão da amálgama e evaporação parcial do modificador<sup>81,90</sup>.

No caso do W seguido de co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, o mecanismo de ação do modificador químico seria semelhante ao caso acima: redução do óxido pela superfície grafítica catalisada pelo metal formador de carbetos W, seguida da formação de compostos de intercalação ou amálgama entre o analito e o Pd; por último, a atomização por meio da dissociação da intercalação ou difusão de amálgama e parcial evaporação do modificador<sup>81,90,96</sup>.

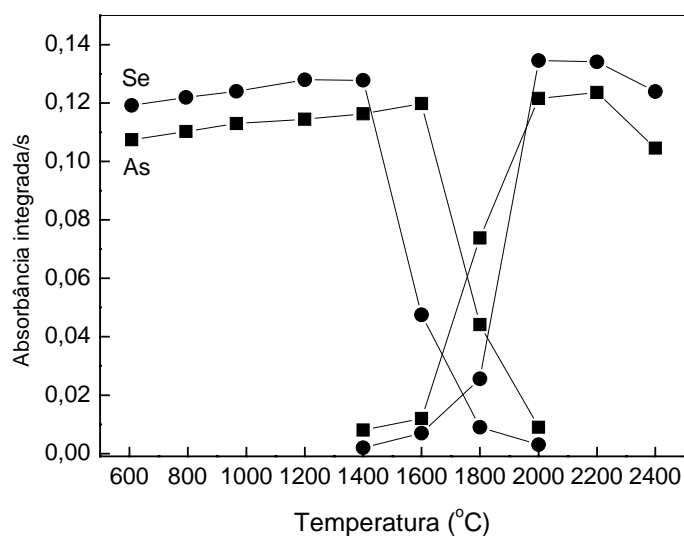
A análise superficial das referências envolvendo W/Rh e W+ co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> revela o potencial desses modificadores na estabilização química de As e Se em amostras de álcool combustível e aguardente <sup>96,97</sup> e águas<sup>81</sup>, respectivamente. Contudo, há pouca informação a respeito da aplicação desses modificadores em amostras de água de coco e leite bovino com ênfase na determinação de Se.

Porém, considerando-se a potencialidade da aplicação da padronização interna, o estudo de As e Ge como padrões internos na determinação de Se em água de coco e leite empregando W/Rh e W+ co-injeção de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificadores químicos, torna-se viável.

### 4.1.3 Estudo do comportamento eletrotérmico

O comportamento eletrotérmico de Se e As em amostra de água mineral gaseificada foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização.

A Figura 4.1 ilustra o comportamento eletrotérmico dos elementos Se e As em amostra de água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub>. A temperatura de pirólise escolhida foi 1400 °C e a de atomização foi 2100 °C, tanto para Se como para As, pois se tratam de medidas multielementares e simultâneas. Observa-se na figura que apesar da estabilidade térmica de As atingir aproximadamente 1600 °C esta temperatura não deve ser escolhida como ótima, pois a partir de 1400 °C há perdas de Se por volatilização.



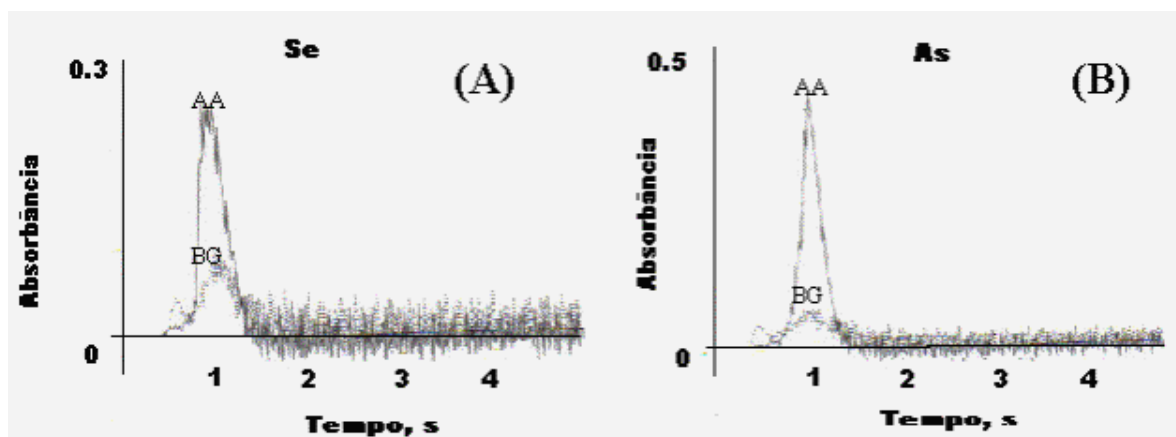
**Figura 4.1** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se e As na presença do modificador químico Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+ Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em água mineral gaseificada (1+1, v/v) contendo 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> + 25 µg L<sup>-1</sup> Se e As.

Os sinais de absorbância podem fornecer informações valiosas que auxiliam na seleção de padrões internos. A comparação do tempo de aparecimento do sinal transiente e do tempo de restauração à linha base, assim como o seu perfil, entre elementos medidos

simultaneamente, pode ser utilizada para avaliar, num primeiro momento, a similaridade dos mecanismos de atomização e/ou modificação química do par analito-padrão interno.

A concordância temporal para os sinais de absorvância pode indicar o potencial de correção de interferências que possam perturbar a atomização. Quanto maior a semelhança entre os precursores atômicos do analito e padrão interno maior a semelhança entre os mecanismos de atomização e modificação química. Sendo assim, as possibilidades de correção dos efeitos provocados pela matriz na fase condensada serão maiores, pois os processos de formação dos precursores são semelhantes e afetados de maneira similar pelos concomitantes da matriz.

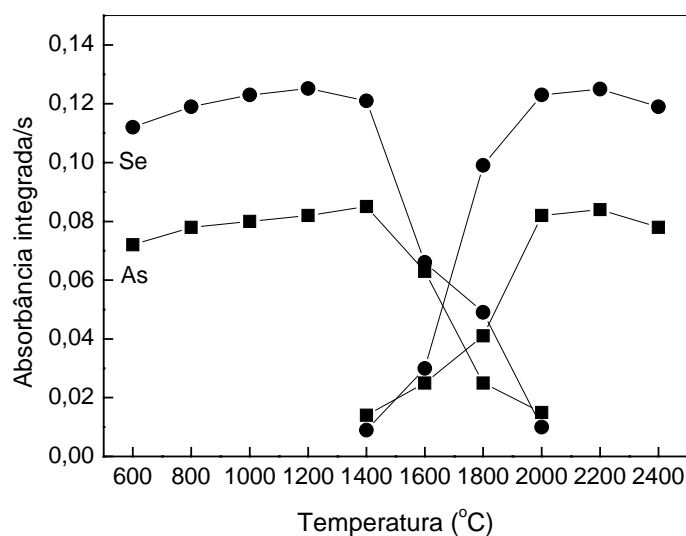
A Figura 4.2 ilustra os sinais de absorvância dos elementos Se e As em amostra de água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub>. O tempo de aparecimento dos sinais e o tempo de restauração à linha base sugerem semelhança nos mecanismos de atomização e de modificação química para Se e As, sendo então um indicativo forte da potencialidade de As como padrão interno para Se em águas minerais gaseificadas.



**Figura 4.2** Sinais de absorvância obtidos para (A) 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se, (B) 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  As em água mineral gaseificada (1+1; v/v) em 0,2 % HNO<sub>3</sub> utilizando Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificadores químicos.

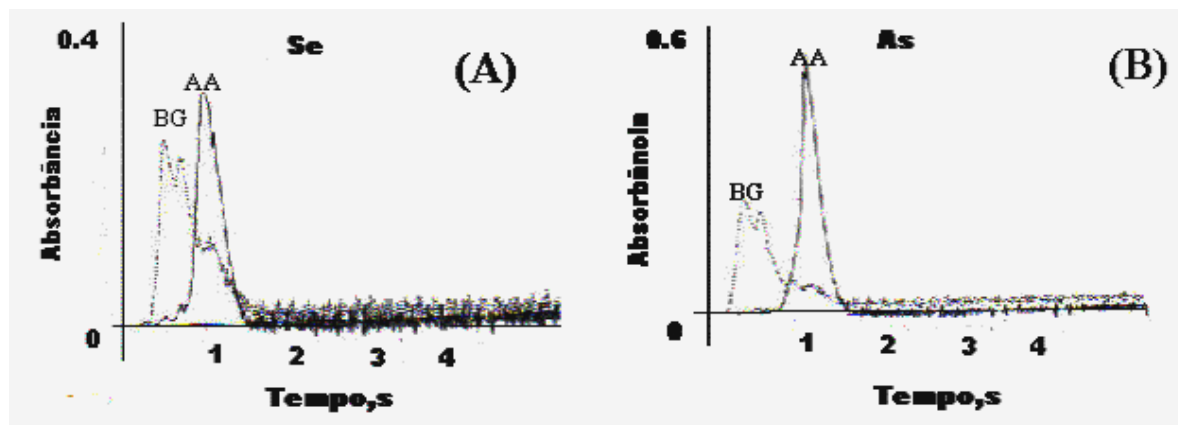
O comportamento eletrotérmico de Se e As em amostra de água de coco (1+4; v/v) em meio 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub> foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização, que estão ilustradas na Figura 4.3. A temperatura de pirólise foi 1300 °C e de

atomização foi 2200 °C. A estabilidade térmica do As atingiu 1400 °C, mas a temperatura de pirólise escolhida foi 1300 °C para evitar perdas de Se. A etapa de queima auxiliou a remoção dos resíduos carbonáceos do interior do tubo de grafite.



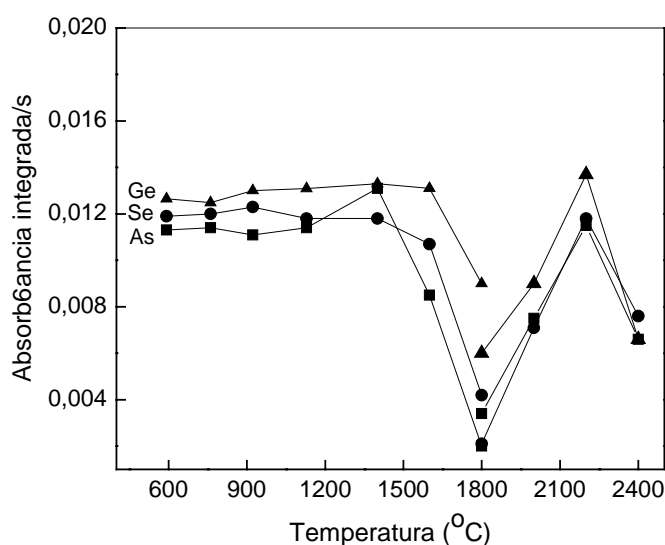
**Figura 4.3** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se e As na presença do modificador W/Rh em água de coco (1+4; v/v) contendo 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub> + 25 µg L<sup>-1</sup> Se e As.

Os sinais de absorbância dos elementos Se e As em amostra de água de coco (1+4; v/v) em meio 1,0% (v/v) HNO<sub>3</sub> estão ilustrados na Figura 4.4. A análise da figura revela que os tempos de aparecimento e de restauração à linha base são bem parecidos, o que habilita As a ser um candidato a padrão interno para determinar Se em água de coco empregando W/Rh como modificador químico.



**Figura 4.4** Sinais de absorbância obtidos para (A)  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, (B)  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As em água de coco (1+4; v/v) em 1,0 %  $\text{HNO}_3$  utilizando W/Rh como modificador químico permanente.

Na Figura 4.5 estão ilustradas as curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se, As e Ge em leite diluído (1+9; v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  para o modificador  $\text{W}+\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ . Observa-se na figura que As é o elemento mais volátil, pois sua máxima temperatura de pirólise foi  $1400^\circ\text{C}$ , enquanto Se e Ge permaneceram estabilizados até  $1600^\circ\text{C}$ . A condição de compromisso para determinar os 3 elementos simultaneamente é selecionar a temperatura de pirólise em função do elemento mais volátil. No caso da atomização a temperatura ótima para os 3 elementos foi  $2200^\circ\text{C}$ .

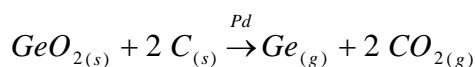
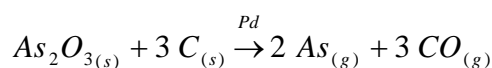
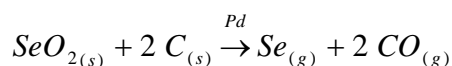
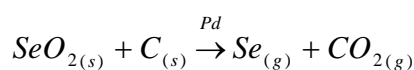


**Figura 4.5** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Se, As e Ge na presença do modificador químico  $\text{W}+\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  em leite (1+9, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  +  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, As e Ge.

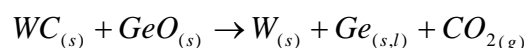
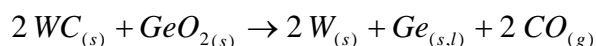
Para contornar os efeitos provocados pela eventual concentração original de As e Ge, foi adotada a estratégia de empregar uma alta quantidade do padrão interno. A concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  corresponde ao limite superior de resposta linear para os dois elementos de acordo com a Lei de Lambert-Beer. Esta estratégia minimiza eventuais problemas de correção decorrentes da flutuação dos teores de As ou Ge nas amostras, pois um grande excesso de As ou Ge sobrepõe as pequenas quantidades presentes na amostra.

A análise do perfil dos sinais atômicos transientes obtidos simultaneamente para Se, As e Ge (Figura 4.6) revela semelhança apenas no tempo de aparecimento do sinal.

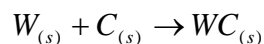
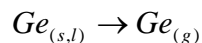
Com relação aos mecanismos de atomização de Se, As e Ge há relatos na literatura <sup>2,-71-73</sup> que estes 3 elementos podem ser atomizados a partir da redução dos respectivos óxido no forno pela superfície gráfica catalisada pelo grupo de platina (PGM):



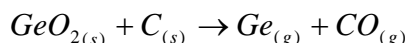
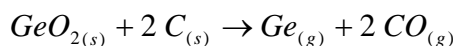
Contudo, como a plataforma do tubo de grafite está recoberta com filme de carbetto de tungstênio (ou oxi-carbetto de tungstênio), parece que a redução dos óxidos de Se, As e Ge por grafite catalisada por WC é a mais provável, conforme exemplo ilustrado para Ge:



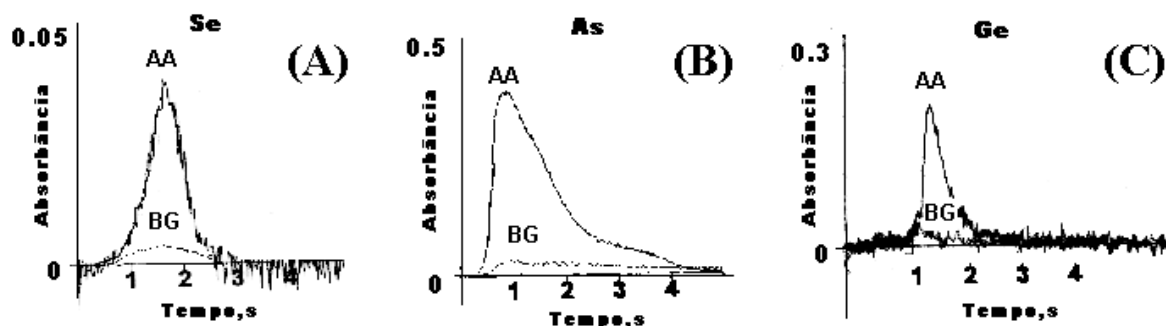




A reação global:



No entanto, mecanismos de difusão e variações na cinética de atomização podem estar acontecendo, explicando provavelmente a diferença nos perfis dos elementos. Há várias hipóteses e teorias a respeito do assunto, mas não temos a intenção de aprofundar essa discussão, pois foge do escopo deste trabalho.



**Figura 4.6** Sinais de absorvância obtidos para (A)  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, (B)  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As e (C)  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  Ge em leite (1+9; v/v) em 1,0 %  $\text{HNO}_3$  utilizando W+ co-injeção de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  como modificadores químicos.

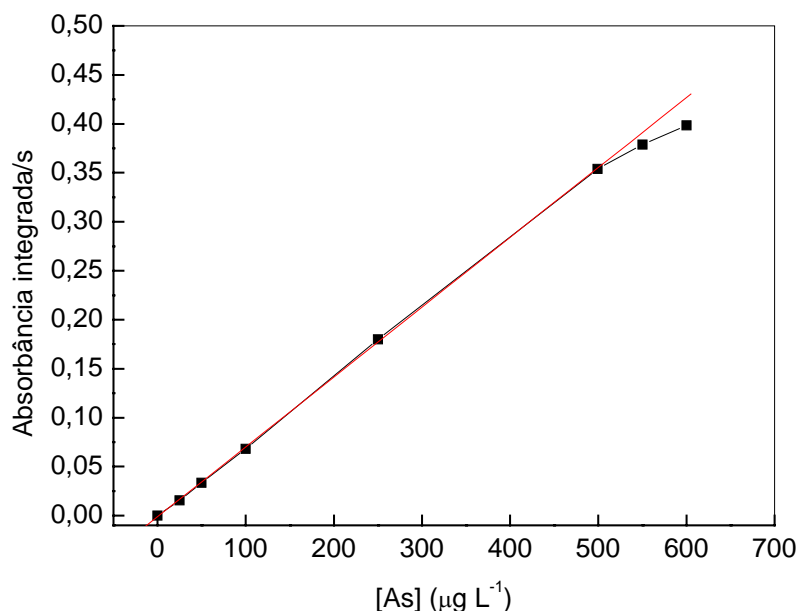
#### 4.1.4 Efeito da concentração do padrão interno na correção do sinal analítico

Um dos principais requisitos para a escolha de um padrão interno é que ele esteja ausente na amostra, ou em concentrações abaixo do limite de detecção da técnica. Porém, quando o padrão interno está presente na amostra em concentração acima do limite de determinação o ajuste da concentração nas amostras, brancos e soluções analíticas, é feito

após a quantificação prévia ou adicionando-o às amostras em altas quantidades tornando-o invariante nas mesmas.

O objetivo deste estudo foi ilustrar o efeito da variação da concentração do padrão interno, tanto naturalmente presente na amostra, como adicionado às amostras e soluções analíticas. Como exemplo serão apresentados os resultados do desenvolvimento de método para determinação de Se em água mineral gaseificada empregando As como padrão interno e  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  como modificadores químicos.

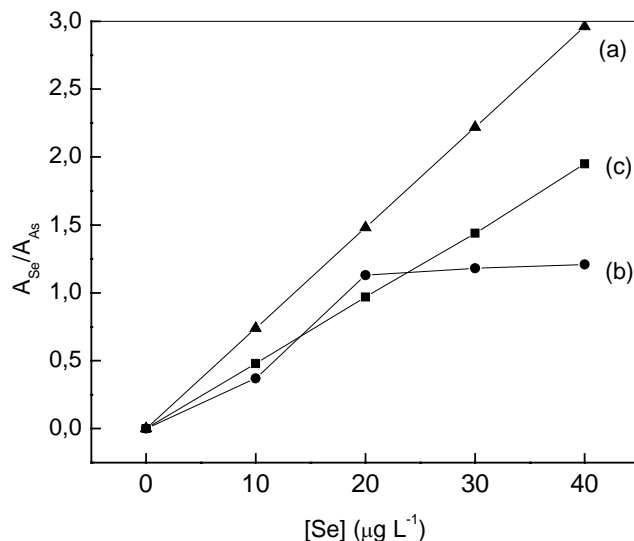
Foram preparadas amostras de água mineral gaseificada com 0, 5 e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  As. Em cada uma destas amostras, estudou-se o efeito da adição de 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As como padrão interno na correção do sinal de 10,00 – 40,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se. A concentração de 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As foi escolhida porque corresponde ao limite superior de resposta linear (Figura 4.7).



**Figura 4.7** Correlação entre absorbância e concentração de As em água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$ .

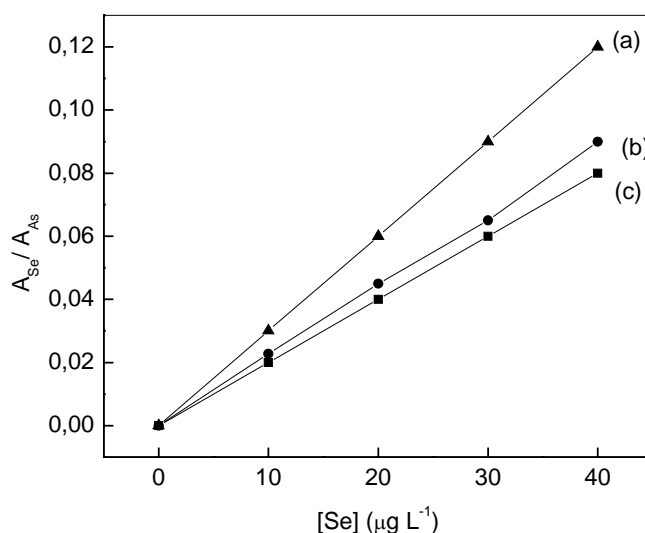
Nesse estudo foram simulados erros de amostragem (volumes injetados de 7  $\mu\text{L}$  de amostra ao invés de 10  $\mu\text{L}$ ). A correção do sinal analítico para amostras contendo

$25 \mu\text{g L}^{-1}$  As só foi possível para as amostras sem As como contaminante (Figura 4.8a) e contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (Figura 4.8c)



**Figura 4.8** Efeito da adição de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como PI nas amostras sobre a correção do sinal do Se, sem adição de As como contaminante (a), com adição de  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (b) e com adição de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (c).

A adição de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As corrigiu o sinal analítico do Se para as amostras sem e com a adição de As como contaminante (Figura 4.9).



**Figura 4.9** Efeito da adição de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As como PI nas amostras sobre a correção do sinal do Se, sem adição de As como contaminante (a), com adição de  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  As (b) como contaminante e com adição de  $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$  As como contaminante (c).

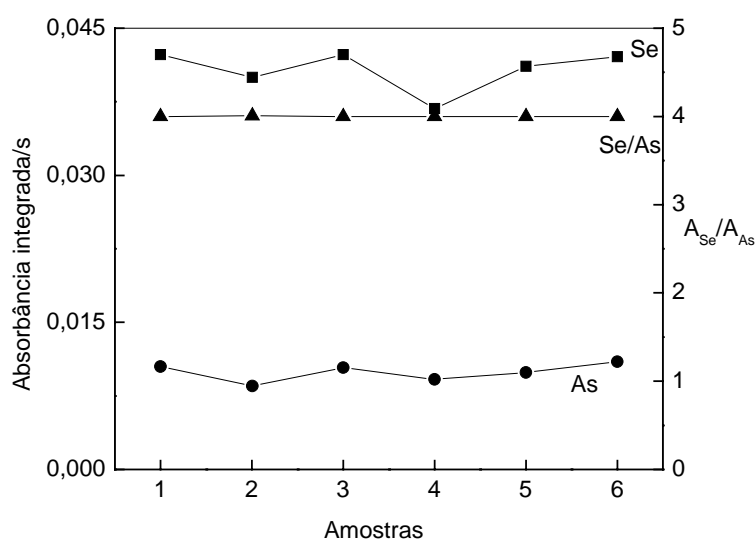
Conclui-se que quando o elemento a ser utilizado com padrão interno estiver presente na amostra original deve-se adicioná-lo em altas quantidades à amostra, padrões e brancos, tornando-o invariante nas mesmas.

Também, pode-se inferir que a quantidade do padrão interno depende do problema analítico. No entanto, em algumas situações há o comprometimento da sensibilidade.

#### ***4.1.5 Influência da matriz na absorbância***

A Figura 4.10 ilustra a correlação entre as absorbâncias de Se e As em diferentes águas minerais gaseificadas. Comparando-se a variação dos sinais referentes a  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As com a razão das absorbâncias do analito pelo padrão interno pode-se observar que independentemente da matriz, erros de amostragem podem ser minimizados com o uso da padronização interna.

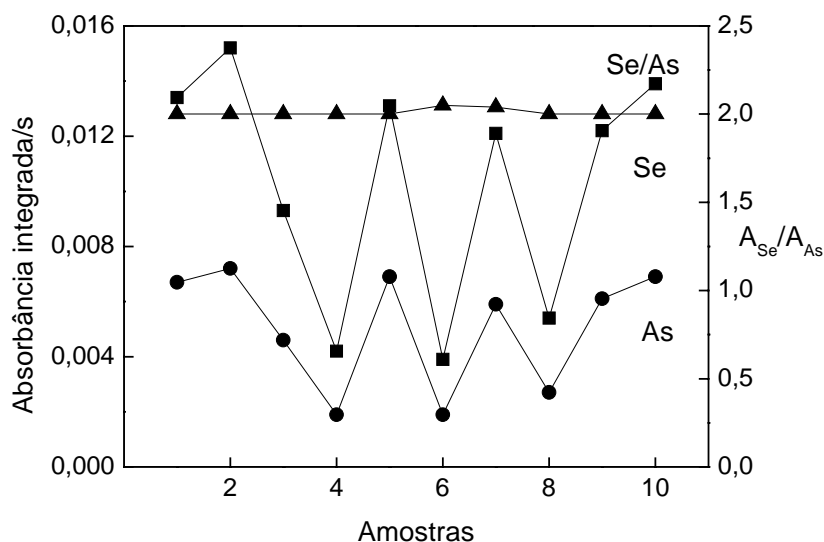
---



**Figura 4.10** Correlação absorvâncias de Se e As e a razão das absorvâncias em diferentes amostras de água mineral gaseificada. Absorvâncias referentes à água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Se e 10 µg L<sup>-1</sup> As.

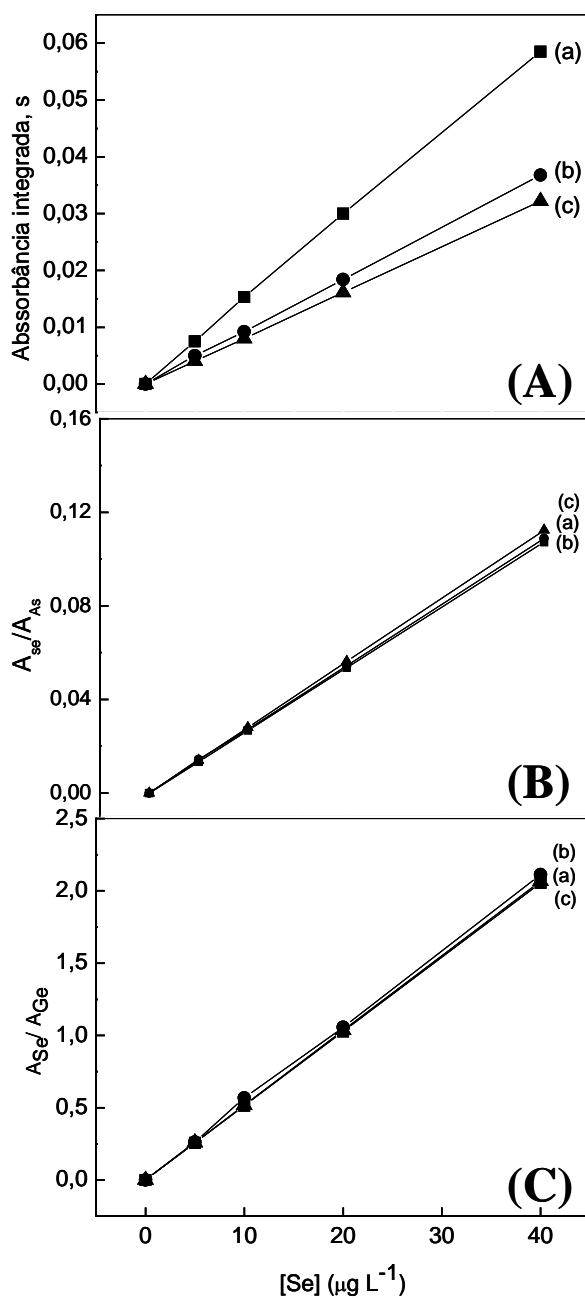
A matriz de água de coco é complexa, podendo gerar interferências, as quais podem diminuir a sensibilidade e/ou provocar desgaste acelerado do tubo de grafite. Além disso, erros sistemáticos e aleatórios podem prejudicar a precisão dos resultados, bem como o desempenho analítico. A padronização interna é um método capaz de compensar erros sistemáticos e aleatórios e de corrigir efeitos de matriz, dispensando a necessidade do emprego dos métodos de adições de analito ou de compatibilização de matriz (“matrix matching”), procedimentos de calibração essenciais quando o efeito de matriz está presente<sup>4-6</sup>. Os métodos de adição de analito e de compatibilização de matriz são bem estabelecidos e conhecidos. O primeiro demanda tempo relativamente longo nas determinações, pois o método exige pelo menos 8 a 10 medidas, resultantes de leituras em duplicata de 4 a 5 adições do analito à amostra. Já o segundo método requer materiais de alta pureza e de composição química similar à da amostra, pré-requisitos difíceis de serem atendidos em algumas situações<sup>40</sup>. A PI apresenta-se então como uma alternativa a estes dois métodos de calibração. Além de corrigir efeitos de matriz, ela pode minimizar erros sistemáticos e/ou aleatórios, melhorando a precisão e exatidão das medidas<sup>4-6,9</sup>. A Figura 4.11 ilustra a correlação entre as

absorbâncias de Se e As em diferentes amostras de água de coco. Comparando-se a variação dos sinais referentes a  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As com a razão das absorbâncias podemos observar que as interferências de matriz e de amostragem podem ser minimizadas com o uso da padronização interna.



**Figura 4.11** Correlação absorbâncias de Se e As e a razão das absorbâncias em diferentes amostras de água de coco. Absorbâncias referentes à água de coco (1+4, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As.

Experimentos preliminares revelaram sérias limitações da calibração por compatibilização de matriz na determinação direta de selênio para diferentes tipos de leite: curvas analíticas em meio de leites integral, desnatado e semi-desnatado apresentaram sensibilidades diferentes (Figura 4.12A). Contudo, quando As (Figura 4.12B) ou Ge (Figura 4.12C) foram empregados como padrão interno, o efeito da matriz foi minimizado. Na Figura 4.12A as curvas correspondem às absorbâncias integradas de Se *versus* concentração em  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se, enquanto para as Figuras 4.12B e 4.12C, correspondem a gráficos de  $A_{Se}/A_{As}$  a  $A_{Se}/A_{Ge}$  *versus* concentração em  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se.



**Figura 4.12** Influência da matriz na absorbância de Se. Curvas analíticas em leite integral (a), semi-desnatado (b) e desnatado (c), sem (A) e com a padronização interna utilizando arsênio (B) e germânio (C) como padrões internos. Foram utilizados 0; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  As e Ge em leites (1+9, v/v) em meio 1.0% (v/v)  $\text{HNO}_3$ .

A análise da Figura 4.12 indica que os efeitos de matriz são corrigidos quando a padronização interna é utilizada. Na Tabela 4.2 estão indicados os valores aproximados dos coeficientes angulares das respectivas curvas analíticas da Figura 4.12.

**Tabela 4.2** Valores aproximados dos coeficientes angulares das curvas analíticas com e sem a padronização interna ilustradas na Figura 4.12

PI	Coeficiente angular		
	Leite integral	Leite desnatado	Leite semi-desnatado
Sem	0,0015	0,00075	0,00062
As	0.0025	0,0025	0,0025
Ge	0,05	0,05	0,05

Pode-se também verificar que a sensibilidade é melhorada na seguinte ordem: sem PI, As e Ge, independentemente do tipo de leite utilizado.

#### 4.1.6 Gráficos de correlação

Os parâmetros da regressão linear dos gráficos de correlação de  $A^{As}$  e  $A^{Ge}$  versus  $A^{Se}$  (Figura 4.13) revelaram a existência de uma correlação positiva entre os sinais de absorvância desses elementos quando utilizado a combinação de  $W+Pd(NO_3)_2$  como modificadores químicos ( $A^{Se}/A^{As}$ :  $r = 0,9967 \pm 0,015$ ;  $A^{Se}/A^{Ge}$ :  $r = 0,9978 \pm 0,004$ ), pois ambos estiveram próximos da condição ideal ( $r=1$ ). As comparações entre os coeficientes angulares e lineares também foram próximas da condição ideal ( $b=1$  e  $a=0$ ), visto que os valores calculados foram :  $A^{Se}/A^{As}$ :  $b = 1,05 \pm 0,019$  e  $a = -0,004 \pm 0,019$  ;  $A^{Se}/A^{Ge}$ :  $b = 1,01 \pm 0,015$  e  $a = -0,0017 \pm 0,0015$  .

Utilizou-se o coeficiente de correlação de Person ( $r$ ) para verificar estatisticamente a existência de uma relação linear entre as duas variáveis ( $x$  e  $y$ ) analisadas<sup>50</sup>.

A equação do coeficiente de correlação das variáveis aleatórias  $x$  e  $y$  é a seguinte:

$$r(x, y) = \frac{1}{N-1} \sum \left( \frac{x_i - \bar{x}}{s_x} \right) \left( \frac{y_i - \bar{y}}{s_y} \right)$$

Onde,



$(x_i, y_i)$  = valores individuais para a medida  $i$

$(\bar{x}, \bar{y})$  = médias amostrais

$(s_x, s_y)$  = desvios padrão

$N$  = número de medidas

O significado para os coeficientes de correlação<sup>50</sup> limitados no intervalo de  $-1$  e  $+1$  são os seguintes:

**$r = +1$** : *correlação positiva perfeita*. Os valores das variáveis pertencem a uma mesma reta com coeficiente angular positivo.

**$r$  próximo de  $+1$** : *forte correlação positiva*. A maior parte dos valores está próxima de uma reta com coeficiente angular positivo.

**$r = 0$** : *não há correlação*. Os valores estão distribuídos sem nenhuma tendência.

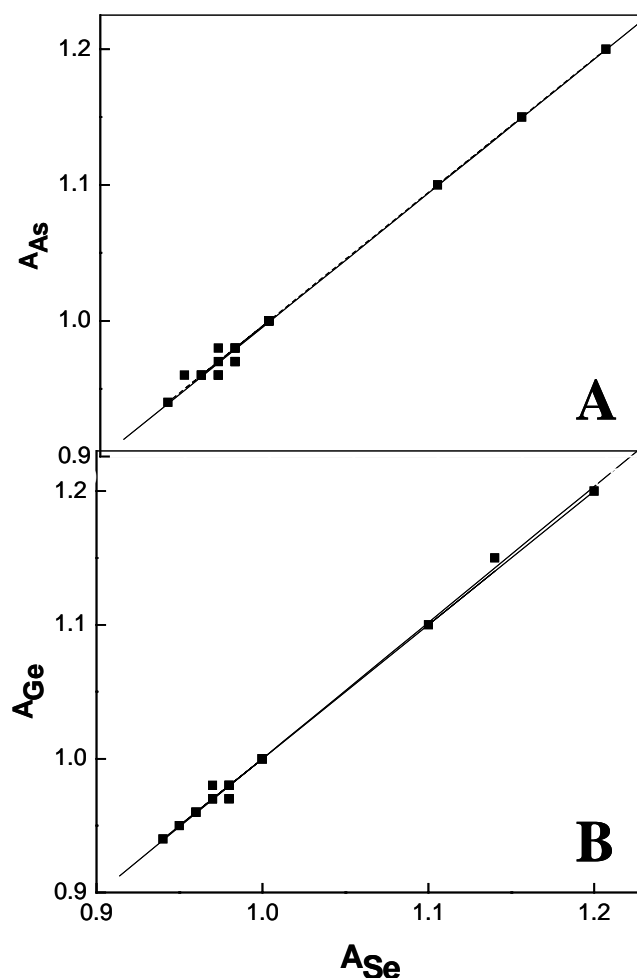
**$r$  próximo de  $-1$** : *forte correlação negativa*. A maior parte dos valores está próxima de uma reta com coeficiente angular negativo.

**$r = -1$** : *correlação negativa perfeita*. Os valores das variáveis pertencem a uma mesma reta com coeficiente angular negativo.

Os coeficientes de correlação obtidos para os pares Se-As e Se-Ge estiveram próximos de  $+1$  indicando uma forte correlação positiva entre o analito e os respectivos padrões internos.

Para comparar as variâncias das vinte medidas consecutivas dos pares Se-As e Se-Ge foi utilizado o teste  $F^{49-51}$ . A diferença entre os dados não foi significativa ao nível de 95% de probabilidade.

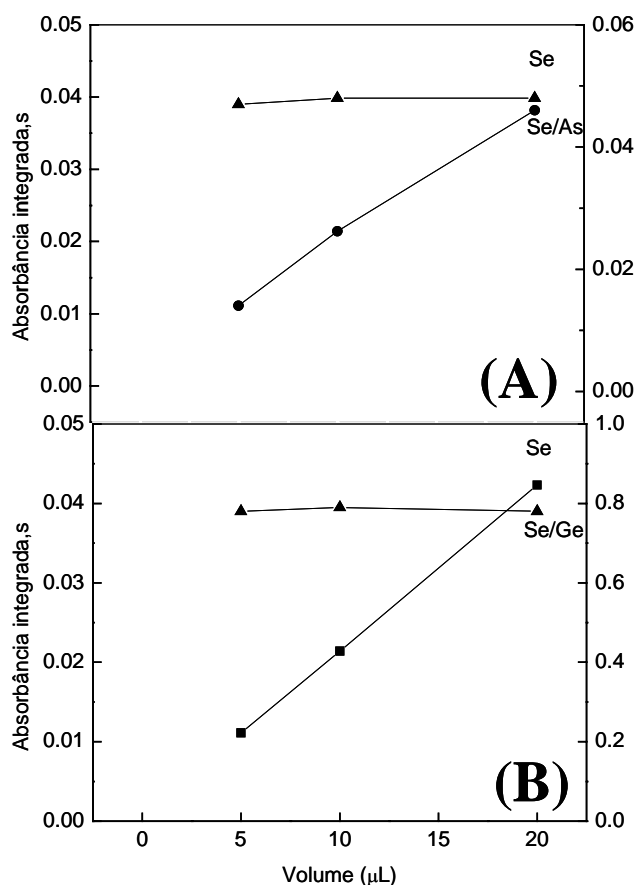
---



**Figura 4.13** Gráficos de correlação para (A) Se/As e (B) Se/Ge em leite (1+9, v/v) em meio 1,0% (v/v)  $HNO_3$  contendo  $25 \mu g L^{-1}$  Se +  $500 \mu g L^{-1}$  As e Ge.

#### *4.1.7 Efeito da variação do volume injetado na absorbância*

Este estudo foi feito com o objetivo de ilustrar que erros de seleção e injeção das alíquotas pelo amostrador automático podem ser compensados pela padronização interna. Simulou-se variações de  $-5 \mu L$  e  $+10 \mu L$ , no volume injetado de  $10 \mu L$ . Então, alíquotas de 5, 10 e  $20 \mu L$  de leite contendo  $25 \mu g L^{-1}$  Se +  $500 \mu g L^{-1}$  As e Ge foram utilizadas para ilustrar o efeito da variação do volume de amostra injetada no atomizador. A Figura 4.14 ilustra a aplicação da padronização interna na correção da variação do volume injetado.



**Figura 4.14** Efeito da variação do volume injetado na absorbância. As absorbâncias correspondem a medidas de uma solução de leite diluído (1+9; v/v) em meio 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se +  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  As (A) e Ge (B) na presença do modificador químico  $\text{W} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ .

As absorbâncias de As, Ge e Se cresceram proporcionalmente com o volume de solução introduzido, porém as razões das absorbâncias permaneceram constantes. Esse estudo ilustra que eventuais problemas no amostrador, causando variações no volume injetado, podem ser corrigidos pela PI.

#### ***4.1.8 Efeito da diluição da amostra na repetibilidade***

Este estudo foi feito com o objetivo de avaliar a influência da diluição das amostras de leite na repetibilidade das medidas, tanto na ausência como na presença dos

padrões internos As e Ge. A análise da Tabela 4.3 sugere que a diluição 1+9, v/v foi a mais adequada para a determinação direta de Se em leites, pois os desvios padrões relativos foram menores. Fica evidente nesta tabela o benefício da PI na melhoria da precisão das medidas para a diluição 1+9: há uma diminuição significativa no r.s.d. de 17% para 4,0% e 5,0% aplicando-se As e Ge, respectivamente. Observa-se também que para as diluições de 1+4, v/v e 1+1, v/v a padronização interna não foi efetiva.

**Tabela 4.3** Efeito da diluição da amostra na repetibilidade

Diluição	Se (%RSD)	Se/As (%RSD)	Se/Ge (%RSD)
1+9, v/v	17	4,0	5,0
1+4, v/v	28	14	50
1+1, v/v	37	89	58

#### *4.1.9 Estudo comparativo da repetibilidade do método proposto com método já existente na literatura para a determinação de Se em águas de coco*

Este estudo foi realizado para a comparação do método proposto com outro método existente na literatura<sup>52</sup>.

A Tabela 4.4 ilustra os valores dos desvios padrão relativos de 20 medidas consecutivas de uma solução  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  As em água de coco (1+4; v/v) em 1,0% (v/v)  $\text{HNO}_3$  avaliando-se assim a maior eficiência da padronização interna perante os outros métodos.

**Tabela 4.4** Comparação da repetibilidade do método proposto com o já existente na literatura

Método	%RSD
Determinação direta, utilizando CFA-C (1+4, v/v) <sup>52</sup>	0,4 a 6,6
Determinação direta, sem o uso da padronização interna e da etapa de pirólise assistida por ar (1+4, v/v)	2,0 a 6,0
Determinação direta, com o uso da padronização interna e da etapa de pirólise assistida por ar (1+4, v/v)	0,3 a 3,5

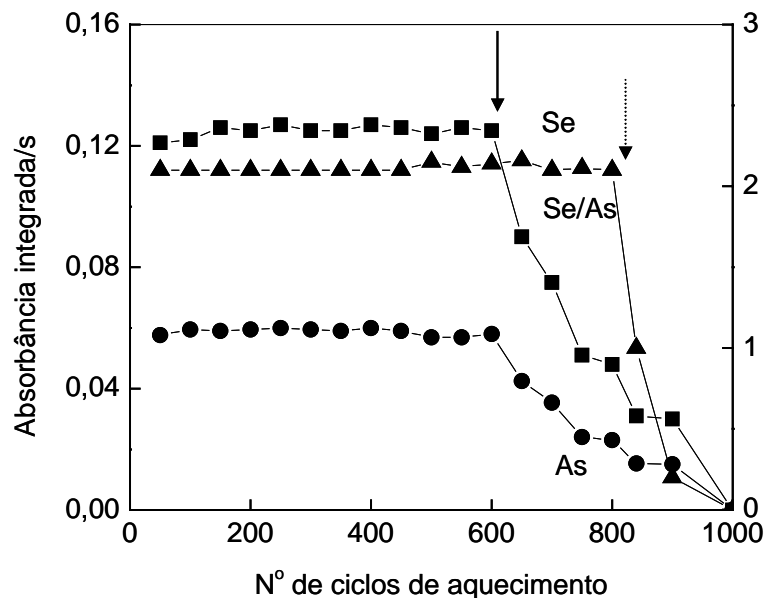
Nota-se que no método para a determinação direta de Se em águas de coco utilizando As como padrão interno, a etapa de queima foi eficaz, pois apresentou baixos desvios padrão relativo devido à redução da formação de resíduos carbonáceos no atomizador.

#### ***4.1.10 Influência do desgaste da superfície grafítica na absorbância***

Sucessivos ciclos de aquecimento do tubo de grafite causam abrasão da superfície do tubo de grafite e da plataforma deteriorando o atomizador, gerando variações na sensibilidade, precisão e exatidão dos resultados analíticos. Nesta situação, o atomizador deve ser trocado imediatamente.

Esse estudo foi planejado com o objetivo de demonstrar que é possível utilizar o tubo de grafite mesmo após o início do processo de deterioração quando se emprega a PI. A hipótese inicial foi a seguinte: se a perda em sensibilidade for similar para analito e padrão interno, o efeito pode ser minimizado. Para ilustrar este estudo foram feitas medidas sucessivas em água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Se e 10 µg L<sup>-1</sup> As. A Figura 4.15 indica que o uso da padronização interna possibilitou o aumento significativo do tempo de vida útil do atomizador (aproximadamente 200 queimas) e também garantiu a confiabilidade dos resultados analíticos mesmo com

superfície gráfrica deteriorada, pois a razão das absorbâncias entre analito e padrão interno permaneceu constante.



**Figura 4.15** Investigação do tempo de vida útil do atomizador em água mineral gaseificada (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Se e 10 µg L<sup>-1</sup> As. As setas cheias e pontilhadas indicam o momento de substituição do tubo sem e com a PI, respectivamente.

#### 4.1.11 Teste de adição e recuperação do analito

A Tabela 4.5 ilustra os dados de recuperação obtidos pela determinação de Se em águas minerais gaseificadas por GFAAS. Foram feitas determinações em dez amostras de água mineral gaseificada utilizando As como padrão interno. Os desvios padrões relativos (%RSD) obtidos por meio da padronização interna variaram de 0,5 a 3,0%. Na ausência da padronização interna, os desvios padrão relativos variaram num intervalo de 1,9 a 4,2%. Os valores de recuperação obtidos foram 97-107% e 70-100% com e sem a padronização interna, respectivamente. Os valores indicados na Tabela sugerem que a padronização interna foi eficiente para melhorar a precisão e a exatidão dos resultados. Testes estatísticos foram

aplicados para garantir a confiabilidade dos resultados, tais como, o teste  $t$  de Student e o teste F.

Os limites de detecção calculados foram  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, sem e com a utilização de As como padrão interno, respectivamente. A massa característica calculada foi  $41 \text{ pg Se}$ .

**Tabela 4.5** Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em águas minerais gaseificadas sem e com padronização interna.

Amostras	Se, $\mu\text{g L}^{-1}$		Recuperação %	
	Com PI	Sem PI	Com PI	Sem PI
1	< LOD	< LOD	106 (0,5)	97 (3,0)
2	< LOD	< LOD	106 (1,2)	100 (3,5)
3	< LOD	< LOD	104 (3,0)	97 (4,0)
4	< LOD	< LOD	94 (1,8)	80 (2,8)
5	< LOD	< LOD	109 (0,8)	93 (2,5)
6	< LOD	< LOD	107 (1,0)	100 (1,9)
7	< LOD	< LOD	101 (1,8)	92 (3,0)
8	< LOD	< LOD	98 (2,5)	89 (4,2)
9	< LOD	< LOD	97 (1,5)	70 (3,8)
10	< LOD	< LOD	97 (1,0)	85 (2,6)

As variâncias dos resultados com e sem PI foram comparadas por meio do teste  $F^{49-51}$ , e houve uma diferença significativa ao nível de 95% de intervalo de confiança. Para comparar as médias com e sem o uso da PI empregou-se o teste  $t$  de Student<sup>49-51</sup> e uma diferença significativa foi detectada ao nível de 95% de intervalo de confiança.

As concentrações de Se encontradas nas amostras de água mineral gaseificada estiveram abaixo dos limites de detecção com e sem o uso da PI.

O uso da padronização interna na determinação de Se em águas minerais gaseificadas por GFAAS melhorou a precisão e a exatidão dos resultados e minimizou os efeitos de amostragem provocados pela presença de gases dissolvidos nas amostras.

A Tabela 4.6 ilustra as recuperações obtidas para a determinação de Se em águas de coco por GFAAS. Foram feitas determinações em dez amostras de água de coco utilizando As como padrão interno. Os desvios padrão relativos (%RSD) obtidos variaram de 1,0 a 3,5% via padronização interna, e de 1,0 a 6,0% na ausência da padronização interna. As recuperações variaram de 98 a 102% e de 70 a 89% com e sem a padronização interna, respectivamente. Os valores tabelados sugerem que a PI foi eficaz na melhoria da precisão e exatidão dos resultados, porém testes estatísticos foram aplicados para avaliar a confiabilidade dos resultados.

Os limites de detecção calculados foram  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  Se e  $2,6 \mu\text{g L}^{-1}$  Se, sem e com a PI, respectivamente.

A massa característica calculada foi 41 pg Se.

---



**Tabela 4.6** Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em águas de coco sem e com a padronização interna.

Amostras	Se, $\mu\text{g L}^{-1}$		Recuperação %	
	Com PI	Sem PI	Com PI	Sem PI
Natural	22,3 $\pm$ 1,6	22,0 $\pm$ 2,5	100 (1,5)	77 (1,0)
Natural	25,2 $\pm$ 0,6	25,3 $\pm$ 4,0	98 (3,0)	80 (4,5)
Natural	15,4 $\pm$ 1,8	15,3 $\pm$ 2,0	101 (2,1)	77 (2,8)
Natural Congelada	7,0 $\pm$ 2,0	6,0 $\pm$ 4,0	99 (1,0)	85 (1,9)
Comercial	21,8 $\pm$ 0,8	21,8 $\pm$ 2,1	100 (1,0)	78 (2,5)
Comercial	6,5 $\pm$ 1,5	6,8 $\pm$ 2,0	98 (1,0)	80 (1,9)
Comercial	20,0 $\pm$ 1,4	18,7 $\pm$ 3,5	102 (1,5)	79 (3,0)
Comercial	8,9 $\pm$ 0,7	9,0 $\pm$ 5,1	98 (2,0)	89 (4,2)
Comercial	20,2 $\pm$ 0,9	20,0 $\pm$ 2,0	100 (3,5)	70 (6,0)
Comercial	23,0 $\pm$ 1,0	22,0 $\pm$ 3,2	102 (1,7)	85 (2,0)

As variâncias dos resultados com e sem PI foram verificadas por meio do teste  $F^{49-51}$ , e não houve uma diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de probabilidade. Para comparar as médias com e sem o uso da PI empregou-se o teste  $t$  de Student<sup>49-51</sup> e uma diferença significativa foi detectada ao nível de 95% de intervalo de confiança.

As diferentes concentrações de Se nas águas de coco analisadas podem ser decorrentes do tipo de processamento das amostras, e da origem das mesmas. A variedade do coqueiro, os tipos de solo onde a planta é cultivada e o grau de maturação do fruto e o manejo também influenciam diretamente no teor de Se na fruta e conseqüentemente na água de coco. Os valores de concentração de Se nas águas de coco determinadas estão de acordo com os níveis máximos permitidos de Se para alimentos líquidos ( $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  ou  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Se) segundo a portaria SVS/MS n° 685 de 27 de agosto de 1998.

A padronização interna na determinação de Se em água de coco por GFAAS é uma estratégia simples para contornar os efeitos de amostragem e de matriz provocados pela complexidade da amostra.

A Tabela 4.7 apresenta os resultados obtidos na determinação direta de Se em leite por GFAAS. Foram feitas determinações em dez amostras de leites e em dois materiais de referência certificados utilizando As e Ge como padrões internos. Os desvios padrão relativos (%RSD) obtidos por meio da padronização interna variaram de 1,0 a 3,0 % (As) e 1,0 a 3,1% (Ge) e na ausência da padronização interna os desvios padrão relativos variaram de 1,0 a 6,5 %. As recuperações obtidas situaram-se entre 99-102% (As) e 98-104% (Ge) com a padronização interna e 70-89% na ausência da PI. Os valores tabelados sugerem que a padronização interna foi eficaz na melhoria da precisão e exatidão dos resultados, porém testes estatísticos foram aplicados para garantir a confiabilidade dos resultados.

A massa característica foi 40 pg Se e os limites de detecção calculados foram 0,90  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se, 0,55  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se e 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$  Se, sem e com a utilização de As e Ge como padrões internos, respectivamente.

---

**Tabela 4.7** Resultados comparativos dos teores, recuperações ( $n= 3$ ) e dos desvios padrão relativos (entre parênteses) da determinação direta de Se em leites sem e com a padronização interna .

Amostras	Se, $\mu\text{g l}^{-1}$		Recuperação (%)			
			As		Ge	
	Com PI	Sem PI	Com PI	Sem PI	Com PI	Sem PI
<b>Desnatado</b>	5,2 $\pm$ 0,1	5,0 $\pm$ 2,0	100 (1,5)	75 (4,0)	98 (1,0)	85 (5,0)
<b>Desnatado</b>	14,5 $\pm$ 0,6	14,1 $\pm$ 4,2	99 (2,0)	84 (5,0)	99 (2,0)	74 (4,5)
<b>Desnatado</b>	7,8 $\pm$ 0,4	7,9 $\pm$ 2,5	102 (3,0)	82 (4,5)	101 (2,5)	86 (3,8)
<b>Semidesnatado</b>	20,0 $\pm$ 0,8	19,4 $\pm$ 3,0	99 (1,0)	70 (5,5)	100 (1,0)	82 (5,4)
<b>Semidesnatado</b>	10,6 $\pm$ 0,4	10,5 $\pm$ 4,0	100 (1,2)	80 (4,1)	104 (1,5)	80 (3,2)
<b>Semidesnatado</b>	5,0 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 4,0	101 (2,5)	89 (4,0)	100 (2,0)	79 (4,5)
<b>Integral</b>	16,4 $\pm$ 0,5	16,6 $\pm$ 3,5	105 (1,0)	78 (3,0)	99 (3,1)	76 (4,0)
<b>Integral</b>	12,0 $\pm$ 0,5	11,0 $\pm$ 4,8	100 (2,0)	89 (4,2)	100 (2,6)	70 (5,1)
<b>Integral</b>	18,5 $\pm$ 0,2	18,2 $\pm$ 6,0	100 (2,0)	70 (6,5)	102 (1,0)	80 (4,2)
<b>Integral</b>	6,1 $\pm$ 0,3	6,1 $\pm$ 0,3	102 (1,0)	85 (3,0)	100 (1,0)	85 (5,0)
<b>SRM1*</b> <b>(0,13 <math>\pm</math> 0,014)</b>	0,132 $\pm$ 0,009	0,131 $\pm$ 0,016				
<b>SRM2*</b> <b>(0,11 <math>\pm</math> 0,01)</b>	0,10 $\pm$ 0,008	0,09 $\pm$ 0,01				

\* SRM1: 8435 Whole Milk Powder ; SRM2: 1549 Non-Fat Milk Powder

Os resultados da análise dos materiais de referência foram comparados com os valores certificados por meio do teste  $t$  de Student<sup>49-51</sup> e revelaram que há diferenças significativas ao nível de 95% do intervalo de confiança.

As variâncias dos resultados com e sem PI foram verificadas por meio do teste  $F$ <sup>50-52</sup>, e houve uma diferença significativa ao nível de 95% de intervalo de confiança. Para

comparar as médias com e sem o uso da PI empregou-se o teste *t* de Student<sup>49-51</sup> e uma diferença significativa foi detectada ao nível de 95% de intervalo de confiança.

Para comparar as variâncias e as médias dos resultados que utilizaram a PI (As e Ge) foram novamente aplicados os testes F e *t* de Student<sup>49-51</sup> e não foram verificadas diferenças significativas ao nível de 95% de intervalo de confiança.

A diferença nas concentrações de Se nos leites analisados pode estar associada ao tipo de processamento e também a complexidade das amostras, por possuírem origem diferenciada. Os valores de concentração de Se nos leites determinados estão de acordo com os níveis máximos permitidos de Se para alimentos líquidos (0,05 mg L<sup>-1</sup> ou 50 µg L<sup>-1</sup> Se) segundo a portaria SVS/MS n° 685 de 27 de agosto de 1998.

Os dois padrões internos avaliados na determinação de Se em leite por GFAAS minimizaram os efeitos de matriz e amostragem, e melhoraram significativamente a precisão e a exatidão dos resultados.

Porém, o preparo das soluções analíticas e amostras quando se utiliza Ge requer balões volumétricos, béqueres e frascos de polietileno e também reagentes especiais (HF) para evitar a adsorção do elemento, além do elevado custo do GeO<sub>2</sub> 99,999%. No caso do As, ele é considerado extremamente tóxico, porém não requer condições especiais no preparo e o custo é baixo em relação ao Ge.

Por apresentarem vantagens e desvantagens de uso, a escolha de As ou Ge como padrão interno na determinação de Se em leite deve ser feita de acordo com a necessidade do laboratório de serviço.

## **4.2 Avaliação de Co como padrão interno na determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS**

### **4.2.1 Problemas analíticos encontrados na amostra selecionada**

Níquel é um contaminante inorgânico controlado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (portaria SVS/MS nº 685, de 27 de agosto de 1998), e está relacionado a numerosos problemas de saúde, principalmente nas dermatites de contato<sup>98</sup>.

O níquel ingerido pelo homem encontra-se distribuído entre vários grupos de alimentos, sendo que as maiores concentrações são encontradas em alimentos enlatados, açúcares, pães e cereais, sugerindo uma contribuição dos equipamentos de processamento dos alimentos na contaminação. Nos alimentos *in natura* as maiores concentrações de Ni são encontradas em nozes, sementes de leguminosas, mariscos, cacau e derivados<sup>98</sup>. Na legislação brasileira, segundo a portaria SVS/MS nº 685 de 27 de agosto de 1998, o teor máximo permissível de Ni em refrigerantes é de 0,1 mg L<sup>-1</sup>.

Os refrigerantes pertencem a uma classe de bebidas que contêm uma grande concentração de compostos inorgânicos e/ou orgânicos, além da presença de gases dissolvidos, podendo gerar efeitos de matriz ou amostragem na determinação de elementos-traço por GFAAS.

O uso da padronização pode ser uma alternativa interessante para minimizar tais interferências.

#### *4.2.2 Parâmetros físico-químicos*

Cobalto foi selecionado como candidato a padrão interno na determinação direta de Ni em refrigerantes por GFAAS por possuir propriedades físico-químicas semelhantes às do analito. A Tabela 4.8 ilustra alguns parâmetros físico-químicos para Ni e Co e seus respectivos óxidos e cloretos <sup>67</sup>.

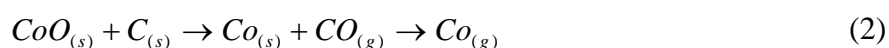
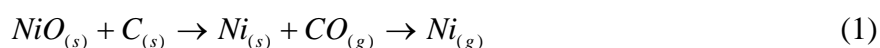
---

**Tabela 4.8** Parâmetros físico-químicos para os elementos Ni e Co e seus respectivos óxidos e cloretos

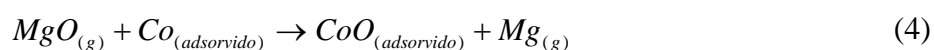
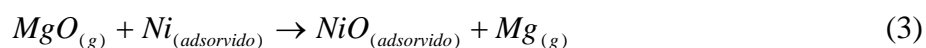
Parâmetros	Ni	Co
Número atômico	28	27
Massa atômica	58,7	58,9
Ponto de fusão (°C)	1453	1495
Ponto de ebulição (°C)	2732	2870
Calor de vaporização (kJ mol <sup>-1</sup> )	431,8	432
Modificador Químico	-	Mg
Temperatura de pirólise (°C)	1100	1400
Temperatura de atomização (°C)	2300	2400
	<b>NiO</b>	<b>Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>
<b>Energia de ativação para atomização do elemento a partir do óxido (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	418	-
<b>Energia de dissociação de MO<sub>(g)</sub> (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	393	389
<b>Ponto de fusão do MO<sub>(s)</sub> (°C)</b>	1990	895
<b>Ponto de ebulição do MO<sub>(l)</sub> (°C)</b>	-	-
	<b>NiCl<sub>2</sub></b>	<b>CoCl<sub>2</sub></b>
<b>Energia de dissociação de MCl<sub>(g)</sub> (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	393	432
<b>Ponto de fusão do MCl<sub>(s)</sub> (°C)</b>	1001	586
<b>Ponto de ebulição do MCl<sub>(l)</sub> (°C)</b>	973	600

Além dos parâmetros físico-químicos, é conveniente que os mecanismos de atomização e de modificação química do analito sejam semelhantes aos do padrão interno.

Os mecanismos de atomização de Ni e Co propostos na literatura<sup>99,100</sup> ocorrem por meio da redução do óxido no forno pela superfície gráfica, seguida da vaporização do metal, descritos nas equações (1) e (2):



O modificador químico utilizado neste estudo foi o nitrato de magnésio  $Mg(NO_3)_2$ , e o possível mecanismo de modificação química baseia-se na produção de óxidos adsorvidos do elemento pelo  $MgO_{(g)}$ <sup>3,101</sup>, e posterior redução deste óxido pela superfície gráfica. A função da adição de Mg é envolver o analito na matriz de  $MgO_{(g)}$ , retardando a vaporização do analito até que o óxido de magnésio seja vaporizado, minimizando possíveis interferências. As equações (3) e (4) descrevem o provável mecanismo:



As semelhanças entre os parâmetros físico-químicos e os mecanismos de atomização e modificação química reforçam a hipótese para a escolha de Co como candidato a padrão interno para a determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS.

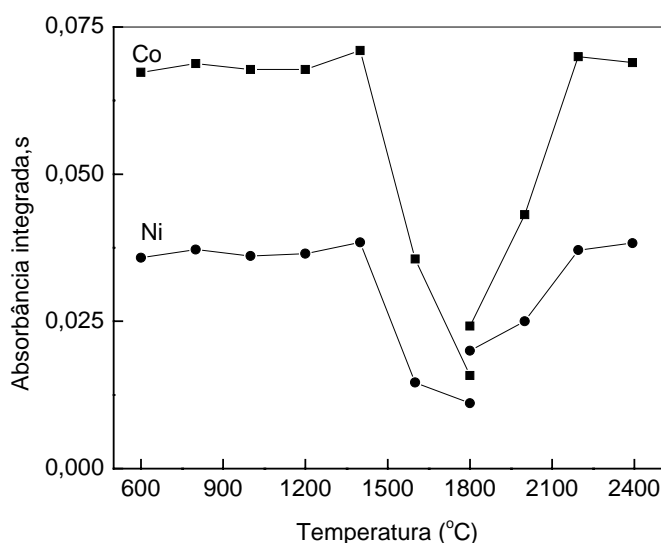


### 4.2.3 Estudo do comportamento eletrotérmico

O comportamento eletrotérmico de Co e Ni em amostra de refrigerante (1+1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub>, utilizando Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico, foi avaliado por meio das curvas de temperatura de pirólise e de atomização, as quais estão representadas na Figura 4.16.

A análise desta Figura revela que os 2 elementos apresentam comportamentos eletrotérmicos semelhantes, pois ambos são estabilizados termicamente até 1400 °C, e a temperatura de atomização ótima para ambos situa-se entre 2200 e 2400 °C.

Esta semelhança é fundamental em medidas simultâneas por GFAAS e conseqüentemente, em padronização interna em GFAAS.

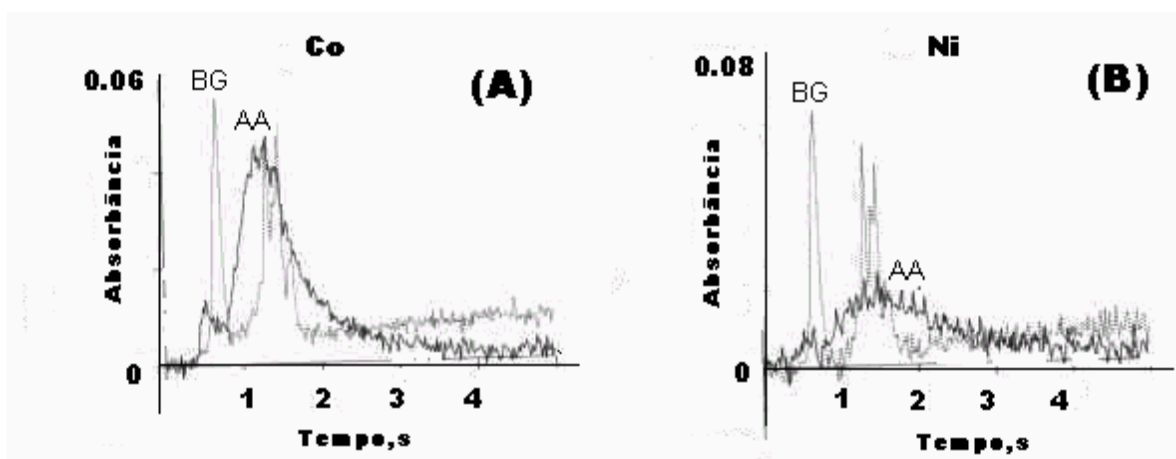


**Figura 4.16** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Ni e Co na presença do modificador químico Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em refrigerante (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub> contendo 25 µg L<sup>-1</sup> Ni e Co.

Uma vez definidas as temperaturas de pirólise e de atomização, assim como o programa de aquecimento é conveniente avaliar o perfil do sinal transiente, pois informações importantes podem ser obtidas, como, o tempo de aparecimento do sinal e o tempo de restauração à linha base de elementos medidos simultaneamente. Estas informações podem

sugerir mecanismos de atomização e modificação química similares, um importante dado para a avaliação e seleção de padrões internos em GFAAS.

A Figura 4.17 mostra os sinais de absorvância de Ni e Co em amostra de refrigerante (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO<sub>3</sub>. A análise do tempo de aparecimento do sinal e o tempo de restauração à linha base dos elementos sugere que há uma grande semelhança entre os mecanismos de atomização e de modificação química de Ni e Co. A concordância temporal observada para os sinais transientes de absorvância indica a possibilidade da correção de fenômenos que possam perturbar a etapa de atomização.

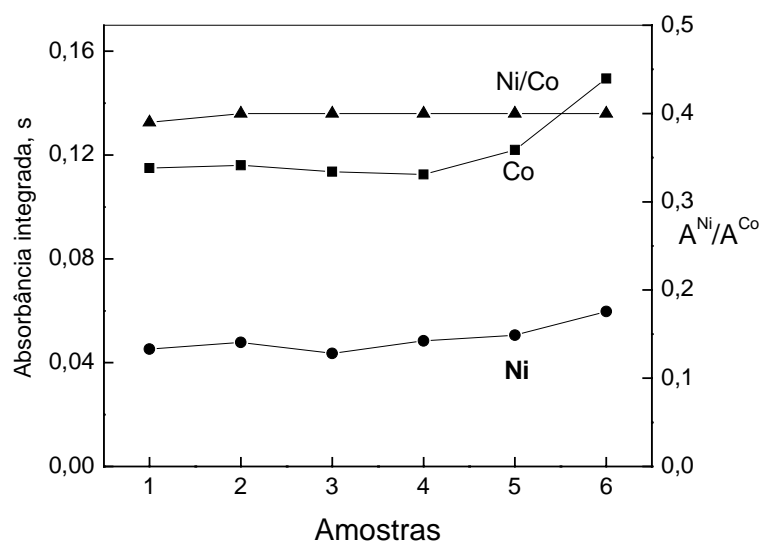


**Figura 4.17** Sinais de absorvância obtidos para 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co (A) e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni (B) em refrigerante (1+1; v/v) em 0,2 % (v/v) HNO<sub>3</sub> utilizando Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico.

A construção de uma curva de calibração para Co revelou que o limite superior de resposta linear foi de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e esta concentração foi escolhida para contornar eventuais problemas na correção decorrentes da variação do teor de Co naturalmente presente na amostra.

#### 4.2.4 Influência da matriz na absorvância

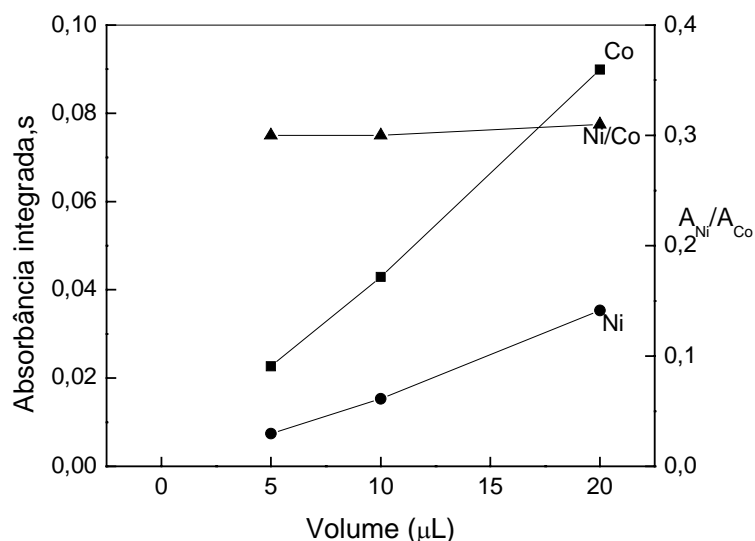
Estudos preliminares revelaram que amostras gaseificadas introduzem sérios erros na amostragem. A Figura 4.18 ilustra a correlação entre as absorvâncias de Ni e Co em diferentes amostras de refrigerantes. Comparando-se a variação dos sinais referentes a  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Ni e  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Co com a razão das absorvâncias do analito pelo padrão interno, pode-se observar que, independentemente da matriz, erros de amostragem podem ser minimizados com o uso da PI. Possíveis interferências de matriz, causadas pela presença de matéria orgânica, também foram minimizadas.



**Figura 4.18** Correlação entre absorvâncias de Ni e Co e a razão das absorvâncias em diferentes amostras de refrigerante. Absorvâncias referentes a refrigerantes (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  Ni e  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Co na presença do modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

#### 4.2.5 Efeito da variação do volume injetado na absorvância

Este estudo foi feito com o objetivo de ilustrar que erros de seleção e injeção das alíquotas pelo amostrador automático podem ser compensados pela padronização interna. Simulou-se variação de 5  $\mu\text{L}$  e 10  $\mu\text{L}$ , no volume injetado de 10  $\mu\text{L}$ . Então, alíquotas de 5, 10 e 20  $\mu\text{L}$  de refrigerante contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni + 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co foram utilizadas para ilustrar o efeito da variação do volume de amostra injetada no atomizador (Figura 4.19).



**Figura 4.19** Efeito da variação do volume injetado na absorvância de Ni e Co em refrigerante (1+1, v/v) em meio 0,2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  contendo 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Co na presença do modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

A Figura 4.19 ilustra que os sinais de absorvância de Ni e Co cresceram proporcionalmente com a quantidade injetada, porém as razões das absorvâncias permaneceram constantes. O uso da PI possibilitou que maiores volumes de solução fossem injetados no atomizador sem o prejuízo da precisão devido à presença de gases dissolvidos que poderiam afetar diretamente a qualidade da amostragem.

#### 4.2.6 Gráfico de correlação

Os parâmetros obtidos para a regressão linear do gráfico de correlação (Figura 4.20) entre  $A^{\text{Ni}}/A^{\text{Co}}$  revelaram existir uma correlação positiva entre os sinais de absorbância desses elementos quando se utilizou  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  como modificador químico ( $A^{\text{Ni}}/A^{\text{Co}}$ :  $r = 0,9797 \pm 0,038$ , pois ambos estiveram próximos da condição ideal ( $r=1$ ). As comparações entre os coeficientes angulares e lineares também foram próximas da condição ideal ( $b=1$  e  $a=0$ ), visto que os valores calculados foram: ( $A^{\text{Ni}}/A^{\text{Co}}$ :  $b = 1,06 \pm 0,05$  e  $a = - 0,114 \pm 0,02$ ). Estes resultados sugerem uma semelhança de comportamento entre o analito e o padrão interno estudado.

Utilizou-se o coeficiente de correlação ( $r$ ) para verificar estatisticamente a existência de uma relação linear entre as duas variáveis ( $x$  e  $y$ ) analisadas<sup>49</sup>. O coeficiente de correlação para Ni/Co foi próximo de -1 indicando uma forte correlação positiva entre o analito e o padrão interno avaliado.

Para comparar as variâncias das vinte medidas consecutivas de absorbância com e sem a PI foi utilizado o teste  $F^{49-51}$ . A diferença entre os dados não foi significativa ao nível de 95% de probabilidade.



**Tabela 4.9** Resultados comparativos dos teores de Ni, recuperações ( $n=3$ ) e dos desvios padrão relativos (valor entre parênteses) da determinação direta de Ni em refrigerantes sem e com a padronização interna.

Amostras	Ni, $\mu\text{g L}^{-1}$		Recuperação %	
	Com PI	Sem PI	Com PI	Sem PI
<b>Limão</b>	6,4 $\pm$ 0,4	6,2 $\pm$ 2,0	101 (1,5)	91 (2,0)
<b>Limão</b>	6,0 $\pm$ 0,5	5,0 $\pm$ 1,5	104 (1,0)	88 (3,5)
<b>Citrus</b>	6,9 $\pm$ 0,5	6,7 $\pm$ 3,0	99 (0,7)	87 (4,0)
<b>Cola light</b>	14,5 $\pm$ 1,5	14,4 $\pm$ 5,8	100 (2,0)	90 (6,5)
<b>Cola</b>	13,2 $\pm$ 0,7	13,4 $\pm$ 3,5	101 (3,4)	85 (4,8)
<b>Cola limão light</b>	15,6 $\pm$ 0,8	15,4 $\pm$ 1,0	102 (0,5)	80 (1,0)
<b>Laranja</b>	7,7 $\pm$ 1,2	7,7 $\pm$ 4,0	102 (0,8)	85 (3,0)
<b>Laranja</b>	7,2 $\pm$ 0,3	6,8 $\pm$ 4,8	98 (2,1)	80 (5,0)
<b>Guaraná</b>	10,1 $\pm$ 1,0	10,0 $\pm$ 6,5	98 (1,7)	81 (7,0)
<b>Uva</b>	4,2 $\pm$ 0,6	4,1 $\pm$ 6,5	100 (1,0)	78 (6,8)

As variâncias dos resultados com e sem PI foram comparadas por meio do teste  $F^{49-51}$ , e não uma diferença significativa ao nível de 95% de probabilidade. Para comparar as médias com e sem o uso da PI empregou-se o teste  $t$  de Student<sup>49-51</sup> e uma diferença significativa foi detectada ao nível de 95% de intervalo de confiança.

As diferentes concentrações de Ni nos refrigerantes analisados podem estar associadas às diferentes amostras e aos tipos de processamento.

Pode-se concluir, que o uso da padronização interna na determinação de Ni em refrigerantes por GFAAS é uma estratégia para contornar os efeitos de amostragem e melhorar a precisão e a exatidão dos resultados.

## 5. CONCLUSÃO

O uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite em determinações diretas é uma estratégia eficiente para melhorar a precisão e a exatidão dos resultados analíticos e também minimizar efeitos de matriz e de amostragem.

A escolha correta do padrão interno é um parâmetro crítico que afeta diretamente o desempenho da padronização interna e deve ser feita cautelosamente, considerando-se primeiramente os parâmetros físico-químicos que estão diretamente relacionados à formação dos átomos gasosos no estado fundamental. A similaridade entre os precursores atômicos do analito e padrão interno também é importante, pois a semelhança dos mecanismos de atomização e de modificação química aumenta as possibilidades de analito e padrão interno atuarem de modo semelhante.

A quantidade do padrão interno adicionado aos brancos, padrões e amostras merece atenção nos estudos sobre padronização interna em espectrometria de absorção atômica. Como a razão  $A^{\text{analito}}/A^{\text{padrão interno}}$  é utilizada, duas situações bem distintas foram observadas:

- 1) Quando o elemento a ser utilizado como padrão interno não ocorrer naturalmente na amostra, ele pode ser adicionado em níveis próximos aos do analito, e a sensibilidade dependerá da  $A^{\text{padrão interno}}$ .
- 2) Por outro lado, quando o elemento a ser utilizado como padrão interno ocorrer naturalmente na amostra, ele deve ser adicionado aos brancos, soluções analíticas e amostras em altos teores, porém, dentro da faixa linear de concentração de modo a sobrepujar o efeito da ocorrência natural; com isso, as altas absorbâncias do padrão interno reduzem a razão  $A^{\text{analito}}/A^{\text{padrão interno}}$ , diminuindo a sensibilidade.



Em resumo, a natureza e a quantidade de padrão interno dependem do problema analítico, mas deve ficar claro que em algumas situações pode ocorrer o comprometimento da sensibilidade.

Os gráficos de correlação são ferramentas simples e complementar de seleção de padrão interno. Até o momento podemos dizer que esses gráficos podem prever o eventual desempenho de um elemento como padrão interno em GFAAS. Os valores de referência de correlação ( $a=0$ ,  $b=1$  e  $r=1$ ) permitem avaliar com maior robustez o desempenho de diferentes elementos e assim classificá-los em função de uma situação ideal.

Nesse trabalho, a padronização interna minimizou erros decorrentes de alterações instrumentais, efeitos de amostragem e efeitos de matriz em amostras heterogêneas. Porém, a padronização interna em GFAAS, com o intuito de melhorar a precisão e a exatidão dos resultados analíticos é complexa principalmente, quanto aos efeitos que se pretende minimizar. Tornam-se extremamente necessários estudos para uma melhor compreensão dos processos que afetam os mecanismos de atomização/modificação química, bem como as interferências geradas por amostras complexas, principalmente para análises diretas, sem nenhum preparo prévio de amostra.

Com o surgimento de equipamentos de absorção atômica simultânea com fonte contínua o campo de pesquisas sobre a padronização interna poderá se expandir, gerando novas aplicações e conceitos.

---

## 6. PERSPECTIVAS

A partir do presente trabalho observou-se a possibilidade de continuidade de estudos envolvendo a padronização interna em GFAAS envolvendo os seguintes aspectos:

1. Avaliação sistemática do uso da padronização interna para minimizar interferências causadas por íons inorgânicos em diferentes amostras.
  2. O uso de outras ferramentas estatísticas para avaliar os gráficos de correlação.
-

## 7. REFERÊNCIAS

- 1 BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. **A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry**. New York: John Wiley, 1998. 470 p.
  - 2 WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3rd ed. Weinheim: VCH, 1999. 941 p.
  - 3 JACKSON, K.W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. Chichester: John Wiley, 1999. 250 p.
  - 4 FERNANDES, K. G.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Padronização interna em espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 249-252, 2003.
  - 5 FERNANDES, K. G.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Evaluation and application of bismuth as a internal standard for the determination of lead in wines by simultaneous electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analyst**, v. 127, n. 1, p. 157-162, 2002.
  - 6 RADZIUK, B.; ROMANOVA, N.; THOMASSEN, Y. Evaluation of internal standardization in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Communication**, v. 36, n. 1, p. 13-16, 1999.
  - 7 TAKADA, T.; NAKANO, K. Evaluation and application of internal standardization in atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. **Analytica Chimica Acta**, v. 107, n. 1, p. 129-138, 1979.
  8. TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. **Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice**. Boca Raton: CRC, 1983. v. 1, p. 1-29.
  - 9 CORREIA, P. R. M. **Estudo da utilização de padrão interno em determinações multielementares por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. 2004. 126 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
  - 10 BARNETT, W. B.; FASSEL, V. A.; KNISELEY, R. N. An experimental study of internal standardization in analytical emission spectroscopy. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 25, n. 3, p. 139-161, 1970.
-

- 11 WALSH, J. N. Use of multiple internal standards of high-precision, routine analysis of geological samples by inductively coupled plasma atomic emission-spectrometry. **Chemical Geology**, v. 95, n. 1-2, p. 113-121, 1992.
- 12 MERMET, J. M.; IVALDI, J. C. Real-time internal standardization for inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry using a custom segmented array charge coupled device detector. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, n. 6, p. 795-801, 1993.
- 13 GOODE, S. R. Choosing internal standard elements in ICP-AES. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 212, n. 122, p. Anyl Part 1, 1996.
- 14 KANICKY, V.; MERMET, J. M. Selection of internal standards for the determination of major and minor elements in silicate rocks and limestones by laser ablation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Applied Spectrometry**, v. 51, n. 3, p. 332-336, 1997.
- 15 ROMERO, X.; POUSSEL, E.; MERMET, J. M. Influence of the operating conditions on the efficiency of internal standardization in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 52, n. 4, p. 487-493, 1997.
- 16 KUCHARKOWSKI, R.; JANKOVA, D.; HERMANN, E.; JOHN, A. Contributions to accuracy improvement of simultaneous ICP atomic emission spectrometry using multi-line measurements of analyte and internal standard elements: applications for the analysis of permalloys. **Fresenius' Journal Analytical Chemistry**, v. 361, n. 6-7, p. 532-539, 1998.
- 17 AL-AMMAR, A. S.; BARNES, R. M. Correction for non-spectroscopic matrix effects in inductively coupled plasma - atomic emission spectroscopy by internal standardization using spectral lines of the same analyte. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 11, p. 1583-1593, 1998.
- 18 VANHAECKE, F.; VANHOE, H.; DAMS, R.; VANDECASTEELE, C. The use of internal standard in ICP-MS. **Talanta**, v. 39, n. 7, p. 737-742, 1992.
- 19 CHEN, X. S.; HOUK, R. S. Polyatomic ions as internal standards for matrix corrections in inductively-coupled plasma mass spectrometry. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 10, n. 10, p. 837-841, 1995.
-

- 20 AMARASIRIWARDENA, C. J.; LUPOLI, N.; POTULA, V.; KORRICK, S.; HU, H. Determination of the total arsenic concentration in human urine by inductively coupled plasma mass spectrometry: a comparison of the accuracy of three analytical methods. **Analyst**, v. 123, n. 3, p. 441-445, 1998.
- 21 SARTOROS, C.; SALIN, E. D. Automatic selection of internal standards in inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 54, n. 11, p. 1557-1571, 1999.
- 22 TANGEN, A.; LUND, W. A multivariate study of the acid effect and the selection of internal standards for inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 54, n.13, p. 1831-1838, 1999.
- 23 RIDDER, F. D.; PINTELON, R.; SKOUKENS, J.; NAVEZ, J.; ANDRE, L.; DEHAIRS, F. An improved multiple internal standard normalization for drift in LA-ICP-MS measurements. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 11, p. 1461-1470, 2002.
- 24 SNEDDON, J.; FARAH, B. D.; FARAH, K. S. Multielement atomic absorption spectrometry: a historical perspective. **Microchemical Journal**, v. 48, n. 3, p. 318-325, 1993.
- 25 MASMANN, H. Evaluation of internal standardization in electrothermal atomic absorption spectrometry. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, REINSTSTOFFE IN WISSENSCHAFT AND TECNİK, 2nd, 1966, Berlin. **Proceedings**. Berlin: Academie Verlag, 1966. p. 297
- 26 FARAH, K. S.; SNEDDON, J. Developments and applications of multielement graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Applied Spectroscopy**, v. 30, n. 2, p. 351-371, 1995.
- 27 HARNLY, J. M. The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with charge coupled array detector. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 2, p. 137-146, 1999.
- 28 BUTLER, L. R. P.; STRASHEM, A. Multiple element atomic absorption analysis. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 21, n. 1, p. 1207-1216, 1965.
- 29 SMITH, S. B.; BLASI, J. A.; FELDMAN, F. J. Analysis of zinc die cast by absorption spectrometry utilizing an internal standard. **Analytical Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 1525-1529, 1968.
-

- 30 FELDMAN, F. J.; BLASI, J. A.; SMITH, S. B. Determination of major constituents by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 8, p. 1095-1097, 1969.
- 31 FELDMAN, F. J.; BLASI, J. A. The use of an internal standard to eliminate interferences in hemoglobin iron determinations by atomic absorption. **Clinical Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 970, 1969.
- 32 PYBUS, J.; FELDMAN, F. J.; BOWERS JR., G. N. Measurement of total calcium in serum by atomic absorption spectrophotometry, with use of strontium internal reference. **Clinical Chemistry**, v. 16, n. 12, p. 998-1007, 1970.
- 33 FELDMAN, F. J. Internal standardization in atomic emission and absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 719-724, 1970.
- 34 TAKADA, T.; NAKANO, K. Internal standard method in flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 36, n. 7, p. 735-745, 1981.
- 35 SILVA, J. E.; SILVA, F. A.; PIMENTAL, M. F.; CARVALHO, F. R.; HONORATO, R. S. Metodologia fluxo-batelada com calibração interna para a determinação de ferro em álcool combustível. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA, 26.; REUNIÃO SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 27., 2004, Salvador. **Livro de Resumos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2004. QA-148.
- 36 SILVA, F. V.; MARTINS, J. C.; BIZAI, L. P. Padronização interna em espectrofotometria de absorção atômica com chama: aumento da precisão e exatidão analítica. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA 26.; REUNIÃO SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 27., 2004, Salvador. **Livro de Resumos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2004. QA-291.
- 37 FLORES, E. M. D.; PANIZ, J. N. G.; SAIDELLES, A. P. F.; MULLER, E. I.; COSTA, A. B. Direct cadmium determination in sediment samples by flame atomic absorption spectrometry using multivariate calibration procedures. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, n. 7, p. 769-774, 2003.
- 38 GÁSPAR A.; BERNDT, H. Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: new flame method. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 240-246, 2000.
- 39 FRESCHI, G. P. G.; DAKUZAKU, C. S.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite: uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química**, v. 25, n. 1, p. 213-226, 2000.
-

40 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5th ed. New York: Saunders College, 1998.

41 PERKIN ELMER. **Recommended conditions for THGA furnaces**. Überlingen, 1991. (Perkin- Elmer publication n. B3110.06).

42 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Use of the internal standardization for difficult sampling by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 334-337, 2004.

43 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry using arsenic as internal standard. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 355-360, 2005.

44 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Internal standardization in graphite furnace atomic absorption spectrometry: comparative use of As and Ge to minimize matrix effects on Se determination in milk. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, n. 5, p. 681-686, 2005.

45 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Evaluation and application of cobalt as internal standard to correct sampling errors in the determination of Ni in soft drinks samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, v. 26, n. 4, p.158-161, 2005.

46 CORREIA, P. R. M; OLIVEIRA P. V; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A. Silver as internal standard for simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 7, p. 917-922, 2004.

47 DAKUZAKU, C. S.; FRESCHI, G. P. G.; GOMES NETO, J. A.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Arsenic as internal standard to correct for interferences in determination of antimony by hydride generation in situ trapping graphite furnacel atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, n. 5, p. 759-763, 2005.

48 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; JACKSON, K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 13, p. 1791-1804, 1998.

---

49 NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 2. ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2003. 416 p.

50 BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química analítica quantitativa elementar**. 2. ed. Campinas: Editora UNICAMP, 1985. 259 p.

51 VOGEL, A. **Química analítica quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1992. 712 p.

52 ALEIXO, P. C.; NÓBREGA, J. A.; JR., D. S.; MULLER, R. C. S. Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. **Química Nova**, v. 23, n. 3, p. 310-312, 2000.

53 MAIHARA, V. A.; GONZAGA, I. B.; SILVA, FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, S. M. F. COZZOLINO. Daily dietary selenium intake of selected brasilian population groups. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, n. 3, p. 465-468, 2004.

54 JENSEN, R. G. Introduction. In: \_\_\_\_\_. **Handbook of milk composition**. San Diego: Academic Press, 1995. cap.1.

55 WONG, N. P.; JENNESS, R.; KEENEY, M.; MARYH, E. H. **Fundamentals of diary chemistry**. 3rd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988. p. 1-39.

56 ALEIXO, P. C.; NÓBREGA, J. A. Direct determination of iron and selenium in bovine milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 83, n. 3, p. 457-462, 2003.

57 QUINÁIA, S. P.; NÓBREGA, J. A. Direct determination of chromium in sugar and milk using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 185-190, 2000.

58 CONI, E.; ALIMONTI, A.; BOCCA, A.; LA TORRE, F.; PIZZUTI, D.; CAROLI, S. Speciation of trace elements in milk by high-performance liquid chromatography combined with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry . In: CAROLI, S. (Ed.). **Element speciation in bioinorganic chemistry**. New York: Wiley-Interscience, 1996. cap. 8.

59 CONI, E.; STACCHINI, A.; CAROLI, S.; FALCONIERI, P. Analytical approach to obtains reference values for minor and trace elements in human-milk. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 5, n. 6, p. 581-586, 1990.

---



60 STURUP, S.; BUCHERT, A. Direct determination of copper and iodine in milk and powder milk in alkaline solution by flow injection inductively coupled plasma mass spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 354, n. 3, p. 323-326, 1996.

61 NÓBREGA, J. A.; GÉLINAS, Y.; KRUSHEVSKA, A.; BARNES R. M. Direct determination of major and trace elements in milk by inductively coupled plasma emission and mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, n. 10, p. 1243-1246, 1997.

62 KRUSHEVSKA, A.; BARNES R. M.; AMARASIRIWARADENA, C. J.; FONER, H.; MARTINES, L. Comparison of sample decomposition procedures for the determination of zinc in milk by inductively coupled plasma atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 7, n. 6, p. 851-858, 1992.

63 VINÃS, P.; CAMPILLO, N.; LÓPEZ-GARCIA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Electrothermal atomic absorption spectrometry determination of molybdenum, aluminium, chromium and manganese in milk. **Analytical Chimica Acta**, v. 356, n. 1, p. 267-276, 1997.

64 WAGLEY, D.; SCHMIEDEL, G.; MAINKA, E.; ACHE, H. J. Direct determination of some essential and toxic elements in milk and milk powder by graphite-furnace atomic – absorption spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, v. 10, n. 4, p. 106-111, 1989.

65 FOSTER, L. H.; SUMAR, S. Selenium concentration in soya based milks and infant formulae available in the United Kingdom. **Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 93-98, 1995.

66 GARCIA, E. M.; LORENZO, M. L.; CABRERA, C.; LOPEZ, M. C.; SANCHEZ, J. Trace element determination in different milk slurries. **Journal of Dairy Research**, v. 66, n. 4, p. 569-578, 1999.

67 WEAST, R. C. **Handbook of chemistry and physics**. 55th ed. Boca Raton: CRC, 1975. p. F-204-212.

68 L'VOV, B. V. Interpretation of atomization mechanisms in electrothermal atomic absorption spectrometry by analysis of the absolute rates of the processes. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 52, n. 1, p. 1-23, 1997.

69 STURGEON, R. E.; CHAKRABARTI, C. L.; LANGFORD, C. H. Studies on the mechanism of atom formation in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 1792-1806, 1976.

---

70 GENÇ, O.; AKMAN, S.; OZDURAL, A. R.; ATES, S.; BALTKIS, T. Theoretical analysis of atom formation-time curves for the HGA-74 furnace – II. Evaluation of the atomization mechanisms Mn, Cr and Pb. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 36, n. 3, p. 163-168, 1981.

71 DROESSLER, M. S.; HOLCOMBE, J. A. Mass spectral and atomic absorption studies of selenium vaporization from a graphite surface. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 42, n. 8, p. 981-994, 1987.

72 ZHENG, Y.; ZHANG, D. Factors influencing the atomization of germanium in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 15, p. 1656-1659, 1992.

73 KOLB, A.; MULLER-VOGT, G.; WENDL, W. Chemical reactions in the determination of germanium by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 42, n. 8, p. 951-957, 1987.

74 QIAO, H.; JACKSON, K.W. Mechanism of modification by palladium in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 46, n. 14, p. 1841-1859, 1991.

75 STYRIS, D. L.; PRELL, L. J.; REDFIELD, D. A.; HOLCOMBE, J. A.; BASS, D. A.; MAJIDI, V. Mechanisms of selenium vaporization with palladium modifiers using electrothermal atomization and mass spectrometric detection. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 5, p. 508-517, 1991.

76 STYRIS, D. L.; PRELL, L. J.; REDFIELD, D. A. Mechanisms of palladium-induced stabilization of arsenic in electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 5, p. 503-507, 1991.

77 TSALEV, D. L.; SLAVEYKOVA V. I.; LAMPUGNANI, L.; D'ULIVO, A.; GEORGIEVA, R. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry-advances, anticipations and reality. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 55, n. 5, p. 473-490, 2000.

78 WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J. R. Palladium nitrate magnesium – nitrate modifier for electrothermal atomic – absorption spectrometry. 3. Determination of mercury in environmental standard reference materials. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 7, n. 3, p. 499-503, 1992.

---

- 79 TSALEV, D. L.; D'ULIVO, A.; LAMPUGNANI, L.; MARCO, M. D.; ZAMBONI, R. Thermally stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hybri-de-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 11, n. 10, p. 979-988, 1996.
- 80 VALE, M. G. R.; SILVA, M. M.; NICHELE, T. Z.; SANTOS, D. In: COLOQUIUM SPECTROSCOPICUM INTERNACIONALE PRE-SYMPOSIUM ON ELECTROTHERMAL ATOMIZATION AND VAPORIZATION TECHNIQUES IN AAS, OES AND ICP-MS. **Program and Book of Abstracts**. [S.l.: s.n.], 1999. p. 64.
- 81 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; JACKSON, K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 13, p. 1791-1804, 1998.
- 82 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; FERREIRA, A. T., BARBOSA JR., F. Tungsten rhodium permanent modifier for cadmium determination in fish slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 2, p. 269-274, 1999.
- 83 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; BARBOSA JR., F. The use of tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in decomposed samples of biological materials and sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Chimica Acta**, v. 409, n. 1-2, p. 267-274, 2000.
- 84 TSALEV, D. L.; D'ULIVO, A.; LAMPUGNANI, L.; MARCO, M. D.; ZAMBONI, R. Thermally stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hybri-de-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 1. Optimization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 10, n. 11, p. 1003-1009, 1995.
- 85 MEERAVALE, N. N.; KUMAR, S. J. Zirconium-iridium coating as a permanent modifier for determination of tin in stream sediment, oyster, tissue and total diet slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 7, p. 704-709, 2002.
- 86 VOLYNSKY, A. B. Catalytic process in graphite furnaces for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 51, n. 13, p. 1573-1589, 1996.
- 87 VOLYNSKY, A. B.; SEDYKH, E. M. Principal process in graphite atomizers modified by high-melting carbides. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 4, n. 1, p. 71-75, 1989.
-

- 88 VOLYNSKY, A. B. Application of graphite tubes modified with high-melting carbides in electrothermal atomic absorption spectrometry. I. General approach. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 4, p. 509-535, 1998.
- 89 VOLYNSKY, A. B. Investigation of the mechanisms of the action of chemical modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry: what for an how?. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 3, p. 139-149, 1998.
- 90 ORTNER, H. M.; BULSKA, E.; ROHR, U.; SCHLEMMER, G.; WEINBRUCH, S.; WELZ, B. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry – mechanisms of action (a tutorial review). **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 57, n. 12, p. 1835-1853, 2002.
- 91 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; BARBOSA JR., F. Tungsten-rhodium permanent chemical modifier for lead determination in sediment slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 12, p. 1913-1918, 1999.
- 92 BARBOSA JR., F.; LIMA, E. C.; ZANÃO, R. A.; KRUG, F. J. The use of a W-Rh permanent modifier for direct determination of bismuth in urine and whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, n. 8, p. 842-846, 2001.
- 93 LIMA, E. C.; BARBOSA JR., F.; KRUG, F. J.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R. Comparison of ultrasound-assisted extraction, slurry sampling and microwave - assisted digestion for cadmium, copper and lead determination in biological and sediment samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, n. 8, p. 995-1000, 2000.
- 94 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; BARBOSA JR., F. Determination of arsenic in sediment and soil slurries by electrothermal atomic spectrometry using W-Rh permanent modifier. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2079-2083, 2000.
- 95 QUEIROZ, Z. F.; ROCHA, F. R. P.; KNAPP, G.; KRUG, F. J. Flow system with in-line separation/preconcentration coupled to graphite furnace atomic spectrometry with W/Rh permanent modifier for copper determination in seawater. **Analytica Chimica Acta**, v. 463, n. 2, p. 275-282, 2002.
- 96 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M.; LIMA, E. C. Direct determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in fuel ethanol by simultaneous GFAAS using integrated platforms pretreated with W-Rh permanent modifier together with Pd+Mg modifier. **Atomic Spectroscopy**, v. 23, n. 6, p. 190-195, 2002.
-

97 OSHITA, D.; OLIVEIRA, A. P.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Determinação direta e simultânea de Al, As, Fe, Mn e Ni em cachaça por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. **Eclética Química**, v. 28, n. 1, p. 91-96, 2003.

98 SMART, G. A.; SHERLOCK, J. C. Nickel in foods and the diet. **Food additives and contaminants**, v.4, n. 1, p.61-71, 1987.

99 ROJAS, D. A study of nickel electrothermal atomization. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 47, n. 13, p. 1423-1433, 1992.

100 HAM, N. S.; MACALLISTER, T. Graphite furnace mass spectrometry of cobalt. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 43, n. 6-7, p. 798-797, 1988.

101 SLAVIN, W.; MANNING, D. C.; CARNRICK, G. R. The stabilized temperature platform furnace. **Atomic Spectroscopy**, v. 2/5, n. 1, p. 137-145, 1981.

---