



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio Mesquita Filho”



Instituto de Química de Araraquara

Dissertação de Mestrado

**“Avaliação da padronização interna na determinação
de chumbo em vinagre por espectrometria de
absorção atômica em forno de grafite”**

Silvana Ruella de Oliveira

Janeiro
2007

SILVANA RUELLA DE OLIVEIRA

**Avaliação da padronização interna na determinação de
chumbo em vinagre por espectrometria de absorção
atômica em forno de grafite**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

**Araraquara
2007**

SILVANA RUELLA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 17 de janeiro de 2007.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. José Anchieta Gomes Neto
(Orientador)
Instituto de Química – UNESP,
Araraquara.

Profº. Dr. Pedro de Magalhães Padilha
IB-Departamento de Química e Bioquímica
UNESP - Botucatu.

Profº. Dr. Bernhard Welz
Universidade Federal de Santa Catarina,
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas -
Florianópolis

*Aos meus amados pais Ledugero e Maria,
pelo amor, carinho, apoio e confiança.....meu porto seguro!*

Aos meus irmãos Ailton e Edilson, pela amizade, apoio e carinho.....

A minha cunhada Elaine, pela amizade, carinho e estímulo.....minha irmã!

Ao meu sobrinho Raphael, por ser tão especial em minha vida!

*Ao meu namorado Artur, pelo amor, companheirismo, amizade,
paciência e contínuo incentivo!*

Pela imensa felicidade de ter uma família tão especial.....Amo muito vocês!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma colaboraram para a concretização deste sonho. Em especial gostaria de agradecer,

Aos meus pais Ledugero e Maria, pelo amor, carinho, apoio e confiança. Obrigada por sempre estarem ao meu lado mesmo distantes e por serem meus maiores exemplos de caráter, humildade, sinceridade, dedicação e felicidade.

Aos meus irmãos Edilson e Ailton, minha cunhada “preferida” Elaine, e ao meu sobrinho Raphael, pelo amor, carinho, apoio e amizade. OBRIGADA!

Ao meu namorado Artur, uma pessoa muito especial em minha vida! Obrigada pelo amor, carinho, compreensão, companheirismo e por comemorar comigo cada etapa vencida.

Ao professor Dr. José Anchieta Gomes Neto, pela orientação, compreensão, amizade, confiança e por todos os ensinamentos: uma grande experiência de vida. MUITO OBRIGADA!

À professora Dra. Mercedes de Moraes, pelo carinho, ensinamentos e amizade.

Aos professores do Departamento de Química Analítica, pelos ensinamentos e amizade.

Aos meus amigos do grupo de Espectroanalítica e Automação: Drika, Marielsa, Patrícia, Beatriz, Carol, Gian, Vanessa, Volnei, Naíse, Fabiana e Roberta pela amizade, conselhos, auxílio e incentivo. MUITO OBRIGADA!

Aos funcionários do IQ pelo atendimento sempre atencioso e amigo.

Aos meus padrinhos Luiz e Vera, pela amizade, carinho e incentivo!

À toda minha família pelo carinho e apoio.

À minha família Araraquarense, Jô, Adri, Rafa “irmãozinhos” e a Néia nossa “Mami”, pela amizade, carinho, confiança, incentivo, pelos bons e maus momentos juntos, pelas risadas e “trapalhadas”. Com certeza, sem vocês tudo seria muito mais difícil e triste: ADORO VOCÊS!

As minhas amigas Iara e Denise, pela amizade e carinho mesmo ‘a distância.

Aos amigos do IQ, Emanuel, André Mendonça, André, Márcio, Paulo, Patrícia Los, Alam, Ademir, Silene, José Antônio, Flávio, Daniel, Amadeu, Antonio, Alexandre, Douglas, Magno, Juliana e Camila (me perdoem se esqueço de alguém), pela amizade, pelas nossas discussões em grupos de estudos durante as disciplinas, pelo aprendizado e pelos momentos de descontração e alegria. OBRIGADA!

A persistência é o caminho do êxito!

Charles Chaplin

Vida...

*"É melhor tentar e falhar,
Que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade, viver."*

Martin Luther King

RESUMO

Bismuto foi avaliado como padrão interno (PI) na determinação direta de chumbo em vinagre por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS). O comportamento térmico do Pb e Bi foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização em meio de vinagre e na presença dos modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru, Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e a mistura ternária $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Por meio da temperatura de pirólise e de atomização, da massa característica, do sinal de absorção de fundo, do desvio padrão relativo, dos sinais transientes, dos gráficos de correlação e dos efeitos de matriz, concluiu-se que o modificador mais apropriado foi Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Curvas analíticas construídas no intervalo de 2,50 a 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb, usando a razão $A^{\text{Pb}}/A^{\text{Bi}}$ (absorbância de chumbo pela absorbância de padrão interno) *versus* concentração do analito, forneceram coeficientes de correlação linear típicos de $r=0.9992$. O método proposto foi aplicado para a determinação direta de chumbo em 18 amostras de vinagre comerciais. A comparação envolveu outro método de calibração e outro método de preparo de amostra. A concentração de chumbo variou de 2,6 a 37 $\mu\text{g L}^{-1}$. O teste *t de student* mostrou que os resultados foram concordantes entre todos os métodos ao nível de 95% de confiança. Dois materiais de referência certificados para água da National Institute of Standards and Technology (1643d; 1640) foram também analisados e os valores encontrados foram concordantes ao nível de 95% de confiança com os valores certificados. A massa característica foi 40 pg Pb e o limite de detecção (LOD) foi de 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$. O desvio padrão relativo (r.s.d) foi = 3,8%. A exatidão também foi avaliada pelo teste de adição e recuperação de padrão, a qual ficou compreendida entre 96-108%. A aplicação da padronização interna corrigiu os efeitos de matriz, melhorou a exatidão e a precisão dos resultados e contribuiu para aumentar a vida útil do tubo de grafite, de 1400 para 1600 ciclos de aquecimento.

Palavras-chave: vinagre, padronização interna, modificador químico, GF AAS, chumbo, bismuto.

ABSTRACT

Bismuth was evaluated as internal standard (IS) for direct determination of lead in vinegar by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS). Thermal behaviors of Pb and Bi were investigated by means of pyrolysis and atomization curves built up in vinegar using the following modifiers: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru, Ru with co-injection of the $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru with co-injection of the $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, W with co-injection of the $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ and the mixture $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Ruthenium with co-injection of Pd/Mg was elected the best modifier after taking into consideration pyrolysis and atomization temperatures, characteristic mass, background level, precision, peak profile, correlation graph and matrix effects. For analytical curves within 2.50 – 15.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb interval using the ratio $A^{\text{Pb}}/A^{\text{Bi}}$ (lead absorbance to IS absorbance) *versus* analyte concentration, typical linear correlations of $r=0.9992$ were obtained. The proposed method was applied for direct determination of lead in 18 commercial vinegar samples. Concentration of lead in vinegars varied from 2.6 to 37 $\mu\text{g L}^{-1}$. Matrix matching calibration and digested samples were employed to help the validation of the method. A paired t-test showed that results between all methods were in agreement at 95% confidence level. Two water standard reference materials from the National Institute of Standards and Technology (1643d, 1640) were also analyzed and results were in agreement with certified values at a 95% confidence level. The characteristic mass was 40 pg Pb and the limit of detection (LOD) was 0.3 $\mu\text{g L}^{-1}$. The relative standard deviation (r.s.d) was = 3.8% and recoveries of spiked samples were in the 96 - 108% range. Useful lifetime graphite tube was 1400 or 1600 without or with internal standardization, respectively.

Keywords: vinegar, internal standardization, chemical modifier, GF AAS, lead, bismuth.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica³⁸ 37
- Figura 2.** Foto do forno de grafite utilizado neste trabalho. 51
- Figura 3.** Foto de um tubo de grafite THGA® 51
- Figura 4.** Diagrama com os principais componentes ópticos do espectrômetro utilizado. As letras entre parênteses correspondem a (a) lâmpadas HCL's ou EDL's; (b) espelhos; (c) tubos de grafite THGA®; (d) fenda; (e) sistema dispersor (prisma e grade de difração Echelle); (f) detector de estado sólido.....52
- Figura 5.** Foto do procedimento para a digestão das amostras em microondas: (a) frascos de quartzo com capacidade para 50 mL contendo 5 mL de amostra + 2 mL de ácido nítrico concentrado + 1 mL de H₂O₂ 30% (m/m); (b) frascos de quartzo acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica e dispostos no rotor do forno de microondas; (c) amostras submetidas ao programa de aquecimento do forno de microondas descrito na Tabela 5.....56
- Figura 6.** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO₃ empregando Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de atomização. 75
- Figura 7.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO₃ obtidos em presença de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 76
- Figura 8.** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO₃ empregando NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 650°C para obtenção das curvas de atomização 77

- Figura 9.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 78
- Figura 10.** Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 empregando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.....79
- Figura 11.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 80
- Figura 12.** Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em vinagre Agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 empregando Ru como modificador permanente. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.....81
- Figura 13.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de Ru como modificador. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6 82
- Figura 14.** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de temperatura de atomização.....83
- Figura 15.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 84

- Figura 16.** Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.....85
- Figura 17.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 86
- Figura 18.** Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando o modificador permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise e temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de temperatura de atomização.....87
- Figura 19.** Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 88
- Figura 20.** Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. ...91
- Figura 21.** Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 92
- Figura 22.** Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6. 93

- Figura 23.** Influência da matriz de vinagre nas absorvâncias de Pb, de Bi e na razão entre essas absorvâncias (Pb/Bi) empregando diferentes amostras de vinagre (1-14) em presença do modificador químico W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Absorvâncias referem-se a amostras de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi. 96
- Figura 24.** Curvas analíticas para Pb obtidas com a aplicação da padronização interna em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 (-■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6. 97
- Figura 25.** Curvas analíticas para Pb obtidas em meio de 0,2% HNO_3 (-■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6. 98
- Figura 26.** Influência da matriz de vinagre nas absorvâncias de Pb, de Bi e na razão entre essas absorvâncias (Pb/Bi) empregando diferentes amostras de vinagre (1-14) em presença do modificador químico Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Absorvâncias referem-se a amostras de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi. 99
- Figura 27.** Curvas analíticas para Pb obtidas com a aplicação da padronização interna em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 (-■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6. 100
- Figura 28.** Curvas analíticas para Pb obtidas em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 (-■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6. 101

Figura 29. Estabilidade do tubo de grafite. Absorbância corresponde a vinagre (1 + 1, v/v) contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. As setas pontilhada e cheia indicam o momento de substituição do tubo sem e com a padronização interna, respectivamente.	103
--	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição típica do vinagre de vinho e o intervalo de concentração dos compostos ¹⁶	26
Tabela 2. Limites máximos de tolerância para As, Cd, Cu, Hg, Pb, Se, Sn, Sb, Zn em alimentos.....	32
Tabela 3. Razão N^*/N_0 e a dependência com a temperatura e comprimento de onda.....	36
Tabela 4. Relação de trabalhos científicos que estudaram a padronização interna em AAS.....	48
Tabela 5. Programa otimizado do forno de microondas para a digestão das amostras de vinagre.....	55
Tabela 6. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento térmico de Pb e Bi em diferentes modificadores.....	58
Tabela 7. Programa de aquecimento do tubo de grafite usado para depositar os modificadores permanentes Ru e W.....	59
Tabela 8. Parâmetros físico-químicos para Pb e Bi e seus óxidos e cloretos ⁵⁰	69
Tabela 9. Principais características analíticas.....	90
Tabela 10. Coeficientes de correlação (r) para os modificadores $Pd(NO_3)_2$ + $Mg(NO_3)_2$, Ru com co-injeção de $Pd(NO_3)_2$ + $Mg(NO_3)_2$ e W com co-injeção de $Pd(NO_3)_2$ + $Mg(NO_3)_2$	94
Tabela 11. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão (n=4) da determinação de Pb em amostras de vinagre.....	105
Tabela 12. Recuperações (n=4) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de vinagre preparadas com $5 \mu g L^{-1}$ Pb.....	107
Tabela 13. Características analíticas do método proposto para a determinação de Pb em vinagre empregando Ru com co-injeção de $Pd(NO_3)_2$ + $Mg(NO_3)_2$ como modificador químico.....	108
Tabela 14. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão (n=4) da determinação de Pb em amostras de vinagre.....	109
Tabela 15. Recuperações (n=4) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de vinagre preparadas com $2 \mu g L^{-1}$ Pb.....	110

Tabela 16. Características analíticas do método alternativo proposto para a determinação de Pb em vinagre empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico.....	111
Tabela 17. Desvios padrão relativos dos métodos propostos e existentes na literatura para determinação direta de Pb em vinagres.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAS	Espectrometria de absorção atômica , do acrônimo em inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
PI	Padronização interna
°GL	Graus Gay Lussac
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
F AAS	Espectrometria de absorção atômica em chama , do acrônimo em inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite , do acrônimo em inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HR-CS AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua , do acrônimo em inglês <i>High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry</i>
THGA	Tubo de grafite com aquecimento transversal , do acrônimo em inglês <i>Transversely-Heated Graphite Atomizer</i>
HGA	Tubo de grafite com aquecimento longitudinal , do acrônimo em inglês <i>Heated Graphite Atomizer</i>
STPF	Forno com plataforma e temperatura estabilizada , do acrônimo em inglês <i>Stabilized Temperature Platform Furnace</i>
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado , do acrônimo em inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ICP-MS	Espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado , do acrônimo em inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>

F AES	Espectrometria de Emissão Atômica em chama , do acrônimo em inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>
HG-GF AAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite acoplada a geração de hidretos , do acrônimo em inglês <i>Hydride Generation Coupled to Graphite Furnace Atomic Absorption spectrometry</i>
HCL	Lâmpada de catodo oco , do acrônimo em inglês <i>Hollow Cathode Lamp</i>
EDL	Lâmpada de Descarga sem eletrodo , do acrônimo em inglês <i>Electrodeless Discharge Lamp</i>
CRM	Material de Referência Certificado , do acrônimo em inglês <i>Standard Reference Material</i>
s.d.	Desvio padrão , do acrônimo em inglês <i>Standard Deviation</i>
r.s.d	Desvio Padrão Relativo , do acrônimo em inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
m_0	Massa característica
L.O.D.	Limite de detecção , do acrônimo em inglês <i>Limit of Detection</i>
L.O.Q.	Limite de quantificação , do acrônimo em inglês <i>Limit of Quantification</i>
ΔG	Energia livre de Gibbs
ΔG^0	Energia livre de Gibbs padrão
r	Coeficiente de Correlação
BG	Sinal de fundo , do inglês <i>Background</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1 O Vinagre.....	21
1.1.1 História.....	21
1.1.2 Definição, tipos de vinagre e composição química.	23
1.1.3 Usos, aplicações e consumo	28
1.2 Contaminação de vinagre por chumbo.....	29
1.3 O monitoramento de contaminantes inorgânicos em alimentos.....	31
1.4 A Espectrometria de absorção atômica.....	35
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	42
2.1 Padronização interna em espectrometria de absorção atômica.....	42
3. PROPOSTA DE TRABALHO	50
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	51
4.1 Materiais	51
4.1.1 Instrumentos e acessórios.....	51
4.1.2 Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados.....	53
4.1.3 Preparo das amostras	54
4.1.4 Descontaminação e armazenamento	56
4.2 Método	56
4.2.1 Estudo do comportamento eletrotérmico de Pb e Bi em diferentes modificadores	56
4.2.2 Obtenção dos gráficos de correlação	59
4.2.3 Influência da matriz de vinagre na absorbância	60
4.2.4 Padronização interna e Vida útil do tubo de grafite	60
4.2.5 Determinação de chumbo em vinagres comerciais	61

4.2.5.1 Determinação direta de Pb em vinagres comerciais empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e padronização interna	61
4.2.5.2 Determinação alternativa direta de Pb em vinagres comerciais empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	66
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
5.1 Parâmetros físico-químicos e mecanismos de atomização e modificação química.....	68
5.2 Estudo do comportamento térmico de Pb e Bi em diferentes modificadores	74
5.2.1 Modificadores convencionais	74
5.2.1.1 Modificador Universal - $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	74
5.2.1.2 Modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	77
5.2.1.3 Modificador misto: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	78
5.2.2 Modificador permanente: Ru	80
5.2.3 Modificadores permanentes com co-injeção	82
5.2.3.1 Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	82
5.2.3.2 Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	84
5.2.3.3 W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	86
5.3 Gráficos de Correlação.....	88
5.3.1 Modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	90
5.3.2 Modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	92
5.3.3 Modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	93
5.4 Influência da matriz na absorbância	95
5.5 Padronização interna e vida útil do tubo de grafite	102
5.6 Determinação de chumbo em vinagres comerciais	104

5.6.1 Determinação direta de Pb em vinagres comerciais empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e padronização interna	104
5.6.2 Determinação direta alternativa de Pb em vinagres comerciais empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	108
6. CONCLUSÕES.....	113
7. REFERÊNCIAS	115

1. INTRODUÇÃO

1.1 O Vinagre

1.1.1 História

O vinagre é um alimento fermentado assim como o vinho, a cerveja, o pão, o queijo e o iogurte conhecido desde os primórdios da civilização. Sua origem é muito antiga, não existindo uma data definida para o seu aparecimento. A palavra vinagre provém do latim *vinu* + *acre*, substantivo que significa vinho azedo, estendendo-se a quase todas as línguas ocidentais, com exceção do italiano *aceto* e do alemão *essig*¹⁻³.

Acredita-se que o primeiro vinagre surgiu a partir de um vinho que “passou do ponto” e ficou “azedo”. Originalmente o vinagre era obtido por fermentação espontânea do vinho, outras bebidas fermentadas, como a cerveja, e de mostos de frutas que eram deixados ao ar^{1,4}.

Existem relatos na história, que há aproximadamente 5000 anos, egípcios, babilônios, indianos, gregos e persas já conheciam a arte da fabricação do vinagre e seu uso versátil como condimento, preparo de bebidas, na conservação de alimentos e até como cosmético. Para eles o vinagre desempenhava muito mais do que a função de temperar os alimentos, pois era o único meio de conservar a carne, o peixe e os legumes e somente desta forma, os alimentos perecíveis podiam ser transportados por longas distâncias. Além disso, vários povos antigos usavam vinagre como um elixir, como um medicamento. Soldados persas e romanos bebiam água com vinagre para assepsia e combate ao vibrião da cólera⁵.

Existem citações do vinagre no antigo e no novo testamento: no antigo testamento, Plínio descreve o episódio de Cleópatra preparando uma bebida, pela solubilização de pérolas em vinagre e Hipócrates, considerado patrono da medicina no Ocidente proclamava as qualidades medicinais do líquido^{1,5}. O acontecimento mais célebre envolvendo vinagre, descrito no novo testamento foi a crucificação de Jesus Cristo, em que este pede água aos romanos e recebe uma esponja embebida em vinagre. Ainda existe muita polêmica sobre este fato, pois é considerado por muitos um ato de crueldade, e por outros um ato de caridade, visto que as tropas

romanas daquela época bebiam a “posca”, mistura de vinagre e água, considerada revigorante para os romanos, porque inibe as papilas gustativas, aliviando temporariamente a sensação de sede⁶.

Durante todo o Império Bizantino, do fim da antiguidade até a queda de Constantinopla (1453), os árabes difundiram o uso do vinagre por toda a bacia mediterrânea. Os judeus também eram adeptos dos sabores ácidos proporcionados pelo vinagre, porém eram mais discretos que os árabes. Na Idade Média, os gostos ácidos dominavam as cozinhas européias, sendo que cerca de 70% das receitas incluía o toque ácido do vinagre. Embora conhecido desde a antiguidade como conservante, aromatizante, refresco e medicamento, a primeira menção técnica sobre vinagre parece ter ocorrido somente no século VII, quando Géber submeteu-o à destilação⁷.

No século XV, Basílio Valentino obteve vinagre a partir de matérias-primas clássicas por meio da destilação do acetato de cobre. Dois séculos mais tarde, Glauber obteve vinagre pela passagem de vinho por rolhas de madeira. Backer, na segunda metade do século XVII, foi o primeiro a constatar que o ar era imprescindível para a obtenção de vinagre. Esta constatação foi confirmada experimentalmente por Rozier em 1876 com a realização de uma experiência com uma bexiga cheia de ar que com decorrer da transformação foi esvaziando-se⁴.

Lavoisier, em 1790, comprovou cientificamente que o oxigênio era essencial na formação do vinagre e em 1822 foi descrita a primeira equação química representando a formação do ácido acético a partir do álcool por Dobereiner⁷⁻⁸.

Kutzing em 1837 defendia que os microorganismos estavam envolvidos com a formação do ácido acético. Por outro lado, em 1839, Liebig, apoiado por Berzélius, afirmava que a transformação de etanol a ácido acético era simplesmente um processo de ordem catalítica. Pasteur, entre 1864 e 1868 comprovou em sua obra sobre vinagre, que era necessário um fermento vivo, para a transformação do álcool em ácido acético⁹⁻¹⁰.

Entre 1873 e 1878, Knierien, Mayer e Hansen identificaram várias bactérias produtoras de vinagre e em 1926, Henneberg publica uma obra identificando numerosas bactérias acéticas. Já no século XX, Buchner e outros, demonstraram que filtrados de bactérias mortas também provocavam o aparecimento do ácido acético a partir do etanol. A partir de 1950, grandes avanços na tecnologia do vinagre foram realizados por Hromatka, Ebner, Greenshields, Richardson, Enkel,

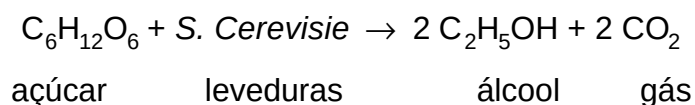
Maurer e Prescott. Hromatka e Ebner patentearam a produção de vinagre pelo processo submerso, aerado e ininterrupto. Na década de 60, completas fábricas de vinagre foram colocadas no mercado por Heinrich Frings, com assistência técnica permanente em qualquer parte do mundo. Recentemente, com tecnologia altamente desenvolvida atingiu-se uma produtividade e automação tão grande, que poucas referências são encontradas nas últimas décadas em relação a tecnologia vinagreira^{1,11-12}.

1.1.2 Definição, tipos de vinagre e composição química.

O vinagre pode ser definido como um alimento do grupo dos condimentos obtido por fermentação alcoólica de matérias-primas açucaradas ou amiláceas, seguida de fermentação acética¹⁰. Os vinagres devem conter quantidades determinadas de ácido acético e podem conter ingredientes opcionais tais como ervas aromáticas, especiarias, frutas, sais e outros conforme especificação do *Codex Alimentarius*, em quantidades suficientes para conferir aroma e sabor peculiares¹.

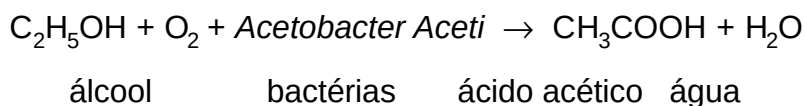
Na fabricação de vinagre é mais comum partir da matéria-prima inicial, e não de vinho, álcool, aguardente, etc., sendo necessárias duas fermentações sucessivas e completamente diferentes:

1ª) Fermentação alcoólica: processo anaeróbio de oxidação do açúcar à álcool pela ação das leveduras. A reação geral está a seguir:



O tipo de levedura utilizada na fermentação depende do substrato ou matéria-prima utilizada, teor alcoólico desejado no produto final, pH do mosto, duração da fermentação, as propriedades do produto, etc.

2ª) Fermentação acética: processo aeróbio de oxidação do álcool à ácido acético pela ação das bactérias. Esta oxidação dá-se em duas etapas, com o acetaldeído como intermediário. A reação está abaixo:



O álcool atua como alimento e o oxigênio é a fonte de vida das bactérias. A *Acetobacter Aceti* é a bactéria mais usada para esta fermentação¹⁰. Depois de submetida à duas fermentações sucessivas, a matéria-prima deve apresentar suas propriedades originais inalteradas (sais minerais, nutrientes, vitaminas, etc.), resultando no sabor peculiar de cada uma delas⁴.

Toda matéria-prima usada para a produção fermentativa de álcool pode também ser matéria-prima para a produção de vinagre. Uma classificação geral para vinagres segue¹:

- vinagres de sucos de frutas → uva, uva-passa, maçã, abacaxi, laranja, pêra, limão, morango, framboesa, ameixa, figo, pêssego, jabuticaba, caqui, etc;
- vinagres de tubérculos amiláceos → batata, batata-doce, mandioca, etc;
- vinagres de cereais → cevada, centeio, trigo, arroz, milho, etc;
- vinagres de matérias-primas açucaradas → xarope de açúcar, mel, melaço, soro de leite, etc;
- vinagres de álcool → álcool diluído, aguardentes e outros destilados.

O tipo de vinagre mais célebre e sofisticado é o Aceto Balsâmico de Modena, elaborado em Modena e região Emília na Itália. Possui acidez superior aos vinagres comuns (6% m/v ácido acético) além de sabor bem diferente e encorpado, sendo o mais caro de todos, chegando a custar aproximadamente 50 dólares uma garrafa de 500 mL. Pode ser classificado em vinagre balsâmico tradicional e vinagre balsâmico, sendo que as principais diferenças entre eles estão no tempo de envelhecimento e procedimentos de produção.

O vinagre balsâmico tradicional é produzido pelo cozimento do mosto de uvas selecionadas, o qual é concentrado à um terço do volume original, dando origem a uma solução rica em açúcar que serve de substrato para as leveduras e subseqüentemente para as bactérias na formação do ácido acético. Este vinagre é estocado em barris de madeira (carvalho, castanha, cereja, amora, etc.) por 25 anos no mínimo. Na produção do vinagre balsâmico o mosto cozido é misturado com vinho, ácido acético e condimentos, deixando esta mistura estocada em barris de madeira para desenvolver propriedades organolépticas típicas¹⁰.

A legislação brasileira define que vinagre ou vinagre de vinho é o produto obtido da fermentação acética do vinho¹³ e deve conter uma acidez volátil mínima de 40 g por litro (4%) expressa em ácido acético. Sua graduação alcoólica não pode exceder a 1ºGL e deve ser obrigatoriamente pasteurizado. Um vinagre com mais de 80 g por litro de acidez volátil é o concentrado de vinagre usado exclusivamente para diluição.

A legislação especifica ainda as seguintes características organolépticas para os vinagres: aspecto (líquido, límpido e sem depósito); cor (de acordo com a matéria-prima que lhe deu origem); cheiro (característico); sabor (ácido). No Brasil, não é permitida a comercialização de vinagre artificial, isto é, vinagre produzido a partir da diluição do ácido acético obtido a partir da síntese do etileno ou da destilação seca da madeira¹³.

A classificação dos vinagres brasileiros é feita da seguinte forma:

- ✓ vinagre de vinho tinto: obtido através da fermentação acética do vinho tinto;
- ✓ vinagre de vinho branco: obtido através da fermentação acética do vinho branco;
- ✓ vinagre de maçã: obtido através da fermentação acética do vinho de maçã;
- ✓ vinagre de álcool: obtido através da fermentação acética do álcool

A produção de um bom vinagre depende de uma série de fatores como linhagem e seleção do microrganismo, a matéria-prima, a concentração do álcool, a temperatura de fermentação (na faixa de 20º a 30ºC), a quantidade de O₂, pH ótimo na faixa de 5 e 6, a maturação e a conservação, a clarificação, o envase, a pasteurização, materiais de construção de tubulações, recipientes e depósitos. A

qualidade dos vinagres nacionais muitas vezes é prejudicada pela excessiva utilização de álcool como matéria-prima e a insuficiência no tempo de envelhecimento¹.

A composição química do vinagre depende da matéria-prima utilizada em sua fabricação. Desta forma, as características qualitativas e as propriedades físico-químicas de um vinagre são essencialmente dependentes da qualidade da matéria-prima e do processo de produção¹⁴. Em geral, na composição química do vinagre estão presentes os carboidratos, ácido acético, etanol, acetato de etila, glicose e frutose. Outros componentes, tais como, ácido málico, ácido tartárico, ácidos carboxílicos, compostos fenólicos, 5 - hidroximetil - 2 - furfural, substâncias nitrogenadas, vitaminas do complexo B, glicerol, metanol, acetoína, Na, Ca, Mg, K, S, Fe, Mn, Zn, Cu e etc., podem estar presentes dependendo do tipo de vinagre e do processo de fabricação e envelhecimento. Assim, uma análise quantitativa dos componentes principais, auxiliada por testes estatísticos pode ser indicadora da origem, de eventual adulteração ou mesmo do grau de envelhecimento de vinagres^{10, 14-15}. A Tabela 1 apresenta a composição química típica do vinagre de vinho e o intervalo de concentração em que geralmente se encontram esses compostos.

Tabela 1. Composição típica do vinagre de vinho e o intervalo de concentração dos compostos¹⁶

Composto	Intervalo de concentração
Álcool etílico (% em volume)	0,1 – 1,5
Acidez total expressa em ácido acético (g/100mL de produto)	6 – 8
Acidez Volátil expressa em ácido acético (g/100mL de produto)	5 – 7
Acidez fixa expressa em ácido acético (g/100mL de produto)	0,5 - 1
Tartrato ácido de Potássio (g L ⁻¹)	1 – 1,3
Extrato seco (g L ⁻¹)	10 – 25
Cinzas (g L ⁻¹)	1,3 – 3,5
Glicerina (g L ⁻¹)	2 – 6
Butilenglicose (g L ⁻¹)	0,5 – 1,5
Etanol (g L ⁻¹)	30 – 400
Acetato de Metila (mg L ⁻¹)	5 – 50
Dimetilcetona (mg L ⁻¹)	0 – 15

Cont. Tabela 1. Composição típica do vinagre de vinho e o intervalo de concentração dos compostos¹⁶

Composto	Intervalo de concentração
Acetato de Etila (mg L ⁻¹)	40 – 1500
Metilpropan-2-olo (mg L ⁻¹)	0 – 2
Metanol (mg L ⁻¹)	60 - 130
Butan-2-olo (mg L ⁻¹)	0 – 2
Propan-1-olo (mg L ⁻¹)	2 - 22
Acetato de Isoamila (mg L ⁻¹)	0 – 5
Metilpropan-1-olo (mg L ⁻¹)	5 - 40
2 e 3 metilbutan-2-olo (mg L ⁻¹)	40 – 85
Ferro (mg L ⁻¹)	4 –10
Cobre (mg L ⁻¹)	0,3 – 0,8
Cálcio (mg L ⁻¹)	50 - 180
Zinco (mg L ⁻¹)	2 – 4
Chumbo (mg L ⁻¹)	0,1 – 0,25
Tirosina (mg L ⁻¹)	3 – 10
Fenilalanina (mg L ⁻¹)	10 – 20
Lisina (mg L ⁻¹)	40 – 50
Istidina (mg L ⁻¹)	4 –10
Etanolamina (mg L ⁻¹)	0 -10
Arginina (mg L ⁻¹)	20 –30
Ácido aspártico (mg L ⁻¹)	10 – 20
Ácido glutâmico (mg L-1)	15 –20
Treonina (mg L-1)	10 –15
Serina (mg L-1)	5 – 10
Prolina (mg L-1)	150 - 250
Alanina (mg L-1)	50 – 70
Glicina (mg L-1)	20 – 25
Valina (mg L-1)	15 – 25
Metionina (mg L-1)	5 – 10
Isoleucina (mg L-1)	10 - 15
Leucina (mg L-1)	15 - 25

1.1.3 Usos, aplicações e consumo

O vinagre é utilizado pela humanidade há milhares de anos, com as seguintes finalidades principais: condimentação, preservação e limpeza. Como condimento é usado em certos alimentos, conferindo aroma e sabor, por exemplo, em saladas, maioneses e molhos. Como agente de preservação é utilizado em conservas e sua ação antifúngica é aplicada em pães, panetones, biscoitos e etc. Também pode atuar como agente de amolecimento em carnes, legumes e hortaliças.

Em materiais metálicos, o vinagre pode ser empregado para remover óxidos, em madeira para limpeza e conservação, e em pisos, tapetes, carpetes e material de embalagens para limpeza e desinfecção. Além disso, outras aplicações ainda podem ser citadas, como por exemplo, anti-séptico, cosmético, removedor, solvente, germicida, medicamento e inseticida¹.

No Brasil e em outros países com culturas semelhantes, a maior parte da população não dá a devida importância à qualidade dos vinagres, utilizando-o apenas como condimento e ignorando suas propriedades nutritivas, organolépticas, sanitizantes e até medicinais. Isso induz à produção por processos cada vez mais produtivos, com matérias-primas de baixa qualidade, conseqüentemente resultando em vinagres que se apresentam apenas como solução ácida, longe de serem vinagres finos e apreciados em muitos países⁹.

O consumo de vinagre por pessoa na Europa é cerca de quatro vezes maior do que em países como o Brasil, devido à questão cultural das várias aplicações do vinagre. Entretanto, o Inmetro considera o consumo em nosso país alto e justifica este pelo fato do Brasil ser um país tropical, em que o consumo de salada é incentivado pelo calor e pela conseqüente necessidade de uma alimentação mais leve e mais saudável, e também pela ação bactericida do vinagre na limpeza de legumes e verduras¹⁷.

1.2 Contaminação de vinagre por chumbo

O chumbo é um contaminante muito comum no ambiente, sendo bastante conhecido por sua alta toxicidade sobre os homens e animais, não apresentando nenhuma função fisiológica no organismo. As exposições ocupacionais e ambientais ao chumbo podem gerar inúmeros distúrbios e doenças. Nos últimos anos a preocupação com os efeitos nocivos causados por este elemento tem aumentado devido à busca da melhoria da saúde pública, visto que este metal afeta praticamente todos os órgãos e sistemas do corpo humano. A intoxicação por chumbo pode causar problemas cardiovasculares, gastrintestinais, hematológicos, renais, endócrinos, neurológicos, imunológicos, reprodutivos e até carcinogênicos¹⁸⁻²¹.

As fontes de contaminação por chumbo podem ser de origem natural, proveniente do intemperismo geoquímico, emissões vulcânicas e névoas aquáticas, ou antrópica, como consequência das atividades humanas, como, industriais, de mineração, uso de defensivos agrícolas e fertilizantes fosfatados, das fumaças dos cigarros, entre outras^{19,22}.

Em países onde o chumbo tetraetila usado como aditivo na gasolina foi proibido, a maior fonte de contaminação não ocupacional para o homem decorre dos alimentos e bebidas. Entre os alimentos está o vinagre, que pode conter altos níveis de chumbo²³⁻²⁸.

O chumbo não faz parte da composição química natural do vinagre, sendo classificado, quando presente, como um contaminante, que segundo o *Codex Alimentarius* (Codex Stan 162-1987)²⁹ não deve ultrapassar a dose máxima permitida em vinagre de 1 mg Kg⁻¹. A alta toxicidade do chumbo, requer que este seja quantificado em alimentos e bebidas. No entanto, é importante salientar que os efeitos tóxicos do chumbo dependem da forma química em que este se encontra, seja orgânica ou inorgânica, pois, nem sempre conhecer a concentração total do elemento em um determinado meio é suficiente para compreender e avaliar o mecanismo de interação entre ele e alvos biológicos^{18, 28}.

A absorção gastrintestinal de chumbo é influenciada principalmente pela idade e alimentação, sendo que adultos absorvem entre 5 e 15% do chumbo ingerido, enquanto crianças de até 8 anos absorvem 50% ou mais. Além disso, dietas a base de lipídios e lactose, ou deficiência em alguns minerais essenciais, como cálcio,

cobre, ferro, fósforo e zinco, podem aumentar a absorção gastrointestinal de chumbo¹⁹⁻²⁰.

Uma fonte de contaminação de chumbo nos alimentos pode acontecer pela sua migração de recipientes que o contêm para os alimentos. A migração pode ocorrer de latas com soldas de chumbo, travessas de cerâmica, objetos de cristal e decalques ou desenhos presentes nos invólucros dos alimentos. Pessoas que consomem grandes quantidades de alimentos enlatados costumam apresentar elevados níveis de chumbo, porém, este problema tem sido amenizado pela substituição dessas soldas por materiais alternativos¹⁹.

A contaminação de vinagre por chumbo é causada pelos ingredientes, pelo processo de produção e envelhecimento, ou por outros. A matéria-prima utilizada para a fabricação de vinagre, pode ser contaminada por chumbo durante sua produção, de várias formas, pela emissão atmosférica de material particulado rico em chumbo que se deposita no solo e nas superfícies das plantas, pelo solo contaminado, pelo uso de fertilizantes fosfatados ou pela presença de resíduos de defensivos agrícolas nos solos, como por exemplo, o arsenato de chumbo utilizado na cultura de uva e que assim pode atingir o vinagre derivado^{19, 21, 27, 30}.

No decorrer do processo de produção e envelhecimento do vinagre a contaminação pode ocorrer pelo uso de materiais e utensílios que contenham chumbo. O vinagre é uma solução com grande poder de ataque aos materiais com os quais mantém contato, pois, além de apresentar efeito corrosivo devido ao seu baixo pH, também apresenta efeito solvente, devido à parte orgânica da molécula de ácido acético. Assim, ambientes que contenham vinagre estão sempre sujeitos à presença de ácido acético volatilizado no ar, que pode levar a corrosão intensa de materiais compostos por ferro, cobre, alumínio e chumbo. Um exemplo clássico, desse tipo de contaminação, que acontece também com os vinhos, é a utilização de barris com soldas de chumbo no envelhecimento de vinagres^{1, 19}.

1.3 O monitoramento de contaminantes inorgânicos em alimentos

A preocupação com a saúde e a qualidade de vida vem estimulando o consumidor a exigir boa qualidade dos alimentos e a escolhê-los com cautela. A busca por maiores informações sobre a origem e o processo de produção dos alimentos (principalmente os industrializados) também cresceu, considerando a grande variedade de produtos já disponíveis no mercado e os novos, lançados a cada dia. Um aumento significativo no número de análises químicas em alimentos e bebidas pode ser observado nos últimos anos devido à necessidade de um controle de qualidade industrial mais rigoroso e eficiente³¹⁻³². No Brasil, o Decreto nº 55871 do Ministério da Saúde de 26/03/1965, atualizado pela portaria da Secretaria de Vigilância Sanitária (nº 685 de 27 de agosto de 1998) estabelece os limites máximos de tolerância para alguns contaminantes inorgânicos em diversas classes de alimentos, como ilustrado na Tabela 2. O objetivo desta portaria é estabelecer um controle nutricional, com vistas a minimizar os riscos à saúde humana e, além disso, harmonizar os limites máximos permitidos destes contaminantes inorgânicos em produtos comercializados entre os países membros do Mercosul.

Tabela 2. Limites máximos de tolerância para As, Cd, Cu, Hg, Pb, Se, Sn, Sb, Zn em alimentos.

Contaminante	Tipo de alimento	Limite máximo de tolerância, mg/kg	
		"in natura"	industrializado
Antimônio	Bebidas alcóolicas fermentadas		0,20
	Bebidas alcóolicas fermento-destiladas		0,20
	Refrescos e refrigerantes		0,20
	Sucos de frutas e xaropes naturais		1,00
	Outros alimentos		2,00
Arsênio	Gorduras vegetais		0,10
	Gorduras e emulsões refinadas		0,10
	Gorduras hidrogenadas		0,10
	Açúcares		1,00
	Caramelos e balas		1,00
	Bebidas alcóolicas fermentadas		0,10
	Bebidas alcóolicas fermento-destiladas		0,10
	Cereais e produtos a base de cereais		1,00
	Gelados comestíveis		1,00
	Ovos e produtos de ovos		1,00
	Leite		0,10
	Mel		1,00
	Peixe e produtos de peixe		1,00
	Produtos de cacau e derivados		1,00
	Chá, mate, café e derivados.		1,00
Cádmio	Bebidas alcóolicas fermentadas		0,50
	Bebidas alcóolicas fermento-destiladas		0,20
	Peixes e produtos da pesca		2,00
	Refrescos e refrigerantes		0,20
	Sucos de frutas e xaropes naturais		0,50
	Outros alimentos		1,00
Cobre	Óleos e gorduras virgens		0,40
	Óleos, gorduras e emulsões refinadas		0,10

Cont. Tabela 2. Limites máximos de tolerância para As, Cd, Cu, Hg, Pb, Se, Sn, Sb, Zn em alimentos.

Contaminante	Tipo de alimento	Limite máximo de tolerância, mg/kg	
		“in natura”	industrializado
Cobre	Caramelos e balas		10,00
	Bebidas alcoólicas fermentadas		10,00
	Frutas, hortaliças e sementes oleaginosas	10,00	10,00
	Gelados comestíveis		10,00
	Lactose		2,00
	Mel		10,00
Estanho	Sucos de frutas cítricas (enlatados)		150,00
	Qualquer alimento		250,0
Mercúrio	Peixes e produtos da pesca		0,50
	Peixes predadores		1,00
Selênio	Alimentos líquidos		0,05
	Alimentos sólidos		0,30
Zinco	Bebidas alcóolicas fermentadas		5,00
	Bebidas alcóolicas fermento-destilladas		5,00
	Refrescos e refrigerantes		5,00
	Sucos de frutas e xaropes naturais		25,0
	Outros alimentos		50,0
Chumbo	Carnes	0,50	1,00
	Aves	0,20	1,00
	Peixes e produto de pesca	2,00	2,00
	Leite	0,05	0,05
	Queijo	-	1,00
	Manteiga	-	0,10
	Outros derivados do leite	-	0,20
	Ovos	0,10	0,20
	Bulbos, Raízes e tubérculos, Cereais,		
	Hortaliças, Leguminosas	0,50	0,50
	Frutas (exceto sucos, cristalizadas)	0,50	0,50
	Frutas cristalizadas ou glaceadas	-	1,00
	Sucos de frutas cítricas		0,30

Cont. Tabela 2. Limites máximos de tolerância para As, Cd, Cu, Hg, Pb, Se, Sn, Sb, Zn em alimentos.

Contaminante	Tipo de alimento	<u>Limite máximo de tolerância, mg/kg</u>	
		“in natura”	industrializado
Chumbo	Sucos de frutas	-	0,40
	Oleaginosas	0,20	0,20
	Óleos, gorduras e emulsões refinadas	-	0,10
	Margarina	-	0,10
	Refrescos e refrigerantes	-	0,20
	Bebidas alcoólicas	-	0,50
	Cacau (exceto manteiga de cacau e chocolate adoçado)		2,00
	Manteiga de cacau	-	0,50
	Chocolate adoçado	-	1,00
	Chocolate não adoçado	-	2,00
	Caramelos e balas		2,00
	Açúcar (sacarose)	-	2,00
	Dextrose (glucose)	-	2,00
	Frutose	-	0,50
	Xarope de glicose	-	2,00
	Lactose	-	2,00
	Café torrado e moído	-	1,00
	Alimento infantil	-	0,20
	Caseína e caseinatos	-	2,00
	Partes comestíveis cefalópodes		2,00
	Outros	0,80	0,80

Embora Cu, Se e Zn sejam considerados elementos essenciais quando presentes em baixas concentrações³³⁻³⁴, a faixa de concentração do elemento que o define como tóxico ou essencial é relativamente pequena. Esse é o motivo desses elementos pertencerem à tabela de contaminantes inorgânicos.

O monitoramento de contaminantes inorgânicos e elementos essenciais em alimentos é, sem dúvida, de relevância e o desenvolvimento de métodos analíticos simples, rápidos e eficientes são necessários. Como os contaminantes inorgânicos estão usualmente presentes em baixas concentrações nos alimentos, técnicas

analíticas sensíveis, como a espectrometria de absorção atômica (AAS)^a, são as mais adequadas.

1.4 A Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica analítica baseada na medida da absorção da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte de radiação por átomos no estado fundamental. A grandeza física de medida é a absorbância e a relação matemática entre absorbância e concentração é dada pela Lei de Lambert-Beer³⁵⁻³⁶.

Átomos no estado gasoso fundamental podem absorver energia e passarem para um estado excitado. Um determinado átomo absorve linhas ou raias de radiação somente em comprimentos de ondas específicos, correspondentes à energia necessária para que a transição eletrônica do estado fundamental para o estado excitado ocorra, característicos de cada elemento e dado pela equação de Planck::

$$\varepsilon = hc/\lambda \quad (1)$$

Onde: ε é a energia responsável pela transição eletrônica do átomo do estado fundamental para o estado excitado; h é a constante de Planck ($h = 6,62608 \times 10^{-34}$ Js); c é a velocidade da luz ($c = 2,99792 \times 10^8$ ms⁻¹) e λ é o comprimento de onda.

Somente algumas transições eletrônicas são possíveis e estas definem o espectro de linhas de emissão / absorção de cada elemento. Entretanto, a fração de átomos excitados em um determinado nível de energia é uma função da temperatura e do comprimento de onda (Tabela 3) e é dado pela distribuição de Boltzmann:

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^* e^{-\Delta E / KT}}{g_0} \quad (2)$$

Onde: N^* é o número de átomos no estado excitado e N_0 é o número de átomos no estado fundamental; E é a energia específica da excitação; K é a

^a Do acrônimo em inglês *Atomic Absorption Spectrometry*

constante de Boltzmann ($k = 1,38066 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$) e T é a temperatura absoluta³⁵.

Tabela 3. Razão N^*/N_0 e a dependência com a temperatura e comprimento de onda

Elemento	Energia de Excitação (eV)	λ (nm)	g^*/g_0	N^*/N_0		
				2000 K	3000 K	4000 K
Zn	5,80	213,9	3	$7,29 \cdot 10^{-15}$	$5,58 \cdot 10^{-10}$	$1,48 \cdot 10^{-7}$
Cu	2,93	422,7	3	$1,21 \cdot 10^{-7}$	$3,69 \cdot 10^{-5}$	$6,03 \cdot 10^{-4}$
Na	2,11	589,0	2	$0,86 \cdot 10^{-4}$	$5,88 \cdot 10^{-4}$	$4,44 \cdot 10^{-3}$
Cs	1,46	852,1	2	$4,44 \cdot 10^{-4}$	$7,24 \cdot 10^{-3}$	$2,98 \cdot 10^{-2}$

Considerando os princípios citados acima, chega-se à lei de Lambert-Beer³⁵, que relaciona a absorbância (A) ou densidade óptica com o número de átomos no estado fundamental (N):

$$A = \log \frac{\Phi_0(\lambda)}{\Phi_{tr}(\lambda)} = 0,43 N l k(\lambda) \quad (3)$$

Onde: $\Phi_0(\lambda)$ é a potência radiante emitida em λ ; $\Phi_{tr}(\lambda)$ é a potência radiante transmitida em λ ; N é o número de átomos livres na camada absorvedora; l é o comprimento da camada absorvedora e $k(\lambda)$ é o coeficiente de absorção atômica espectral.

A técnica AAS apresenta alta seletividade e relativamente poucas interferências, uma vez que as transições eletrônicas ocorrem em comprimentos de onda específicos para cada elemento. Os espectrômetros de absorção atômica são constituídos de seis componentes principais: 1) fonte de radiação, 2) sistema de introdução de amostras, 3) sistema de atomização; 4) monocromador; 5) sistema de detecção e 6) leitura. Esses componentes são combinados de forma adequada e compacta, conectados a sistemas computadorizados para o controle operacional do equipamento e o tratamento de dados. Na Figura 1 está ilustrado um diagrama representativo dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica.

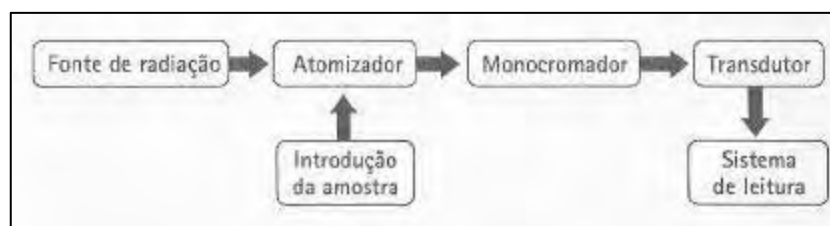


Figura 1. Diagrama dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica³⁷.

Os primeiros espectrômetros de absorção atômica utilizavam a chama como atomizador (F AAS)^b e atualmente espectrômetros à base de chama são fabricados e amplamente difundidos. O acoplamento de um forno de grafite ao espectrômetro de absorção atômica deu origem à chamada espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS)^c, sendo que o tubo de grafite é o atomizador. Recentemente, depois de muito esforço de vários pesquisadores, surge um novo conceito em AAS, a espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (HR-CS AAS)^d. Em espectrofotometria de absorção atômica com fonte contínua, apenas uma lâmpada é necessária para todos os elementos (lâmpada de arco curto de xenônio), um monocromador de alta resolução e um dispositivo de carga acoplada como detector³⁹⁻⁴⁰.

A F AAS é mais adequada para análises elementares em níveis de concentração de mg L^{-1} , enquanto a GF AAS é mais apropriada quando os elementos de interesse estiverem presentes nas amostras em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$. Portanto, a GF AAS proporciona sensibilidade muito maior do que a F AAS, pois a maior parte do analito que é introduzida no tubo de grafite é atomizada dentro do caminho óptico, enquanto que na chama, que é um sistema dinâmico, a maior parte da amostra aspirada (~95%) é descartada pelo dreno do nebulizador. Além disso, a parte da amostra que alcança a chama é diluída pelos gases desta e isso diminui a sensibilidade, enquanto que em GF AAS o forno de grafite condensa a nuvem atômica de maneira mais eficiente porque é fechado. Uma outra vantagem da GF AAS, quando comparada à F AAS, é a pequena quantidade de amostra requerida, da ordem de poucos microlitros, enquanto que em F AAS trabalha-se com um

^b Do acrônimo em inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

^c Do acrônimo em inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

^d Do acrônimo em inglês *High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*

volume de solução de amostra de alguns mililitros⁴¹.

Na espectrometria de absorção atômica em forno de grafite a amostra é introduzida no tubo de grafite através de um orifício no tubo, por meio de uma micropipeta ou de um amostrador automático. A amostra pode ser dispensada diretamente na parede do tubo ou sobre uma plataforma de L'vov ajustada na parte interior do tubo. Há diferentes configurações de tubos de grafite, sendo os de aquecimento transversal (THGA[®])^e ou longitudinal (HGA)^f os mais comuns. A configuração THGA permite uma distribuição mais uniforme da temperatura ao longo do tubo de grafite, minimizando assim eventuais condensações nas extremidades do tubo, reduzindo a sensibilidade. O uso da plataforma é importante em várias situações analíticas. Localizada de maneira a ter contato mínimo com a superfície do tubo, o aquecimento da mesma ocorre via atmosfera do interior do tubo, sendo o analito atomizado em uma atmosfera isotérmica, evitando perda na sensibilidade por condensação. Depois da introdução da amostra no tubo de grafite, este é submetido a um programa de aquecimento que usualmente inclui cinco etapas básicas:

Secagem: o solvente é evaporado lentamente da amostra para evitar respingos e perda do analito durante a pirólise;

Pirólise: a maior parte possível da matriz deve ser removida nesta etapa, que precede a atomização, minimizando as interferências químicas e a magnitude do sinal de fundo. O tempo e a temperatura de pirólise devem ser controlados de tal forma que se elimine o máximo dos componentes da matriz sem perdas do analito, ou seja, são determinados pelas estabilidades térmicas relativas do analito e da matriz. Modificadores químicos são geralmente empregados para estabilizar o analito a temperaturas mais altas, garantindo a volatilização da matriz sem perdas do analito;

Atomização: etapa responsável pela formação de átomos gasosos no estado fundamental no interior do tubo de grafite. A temperatura de atomização deve ser alta suficiente para garantir a completa e rápida volatilização do analito com formação de sinais transientes simétricos e repetitivos;

Limpeza: é feita em temperatura elevada (2400–2550⁰C) por um curto período de tempo com o objetivo de eliminar qualquer resíduo no tubo de grafite;

^e Do acrônimo em inglês *Transversely-Heated Graphite Atomizer*

^f Do acrônimo em inglês *Heated Graphite Atomizer*

Resfriamento: garantir que a plataforma esteja à temperatura ambiente antes da introdução de uma nova amostra.

Uma atmosfera inerte durante todo o programa de temperatura é obtida por um fluxo externo, que passa ao redor do tubo de grafite protegendo-o da degradação a altas temperaturas por contato com oxigênio da atmosfera e um fluxo interno, que elimina o ar e carrega vapores da matriz da amostra durante todo o programa, exceto na etapa de atomização. O fluxo interno de gás cessa durante a etapa de atomização e o tubo de grafite é aquecido rapidamente até uma temperatura suficientemente elevada para que o analito seja atomizado³⁵⁻³⁷.

Inúmeros desenvolvimentos e aplicações excepcionais em GF AAS são encontrados na literatura devido à versatilidade desta técnica e suas múltiplas vantagens: ação do atomizador como reator químico, proporcionando pré-tratamentos químicos e térmicos da amostra, obtenção de excelentes limites de detecção, separação do analito da matriz no reator, utilização de pequenos volumes de amostra, decomposição prévia da amostra não é requerida (análise direta), caráter multielementar, rapidez, espectro simples, entre outras. Esta técnica permite a análise direta de amostras sólidas e/ou suspensões, resultando no preparo mínimo da amostra, sem uso de digestão via úmida em sistema aberto ou fechado ou mesmo a fusão, reduzindo o tempo e o custo da análise, além de minimizar a contaminação. Apesar de ser considerada uma técnica analítica bem estabelecida e robusta o suficiente para ser implantada em laboratórios envolvidos com rotina de larga escala³⁵⁻³⁷, uma aplicação mais ampla da técnica em análises de rotina tem sido limitada pela susceptibilidade a efeitos de matriz, os quais podem diminuir a sensibilidade ou provocar desgaste acelerado do tubo de grafite. Além disso, erros sistemáticos e aleatórios podem prejudicar a exatidão e a precisão dos resultados bem como o desempenho do método analítico em questão⁴². Entretanto, o desempenho analítico da técnica pode ser melhorado se todos os parâmetros instrumentais estiverem devidamente otimizados e se o conceito "STPF"^{g 35,37,43} for adotado. O conceito STPF compreende as seguintes medidas: uso de tubos de grafite com aquecimento transversal, recobertos piroliticamente e com plataforma; uso de modificador químico; aquecimento rápido; parada do fluxo de gás interno durante a atomização; aquisição do sinal analítico em absorbância integrada;

^g Do acrônimo em inglês *Stabilized Temperature Platform Furnace*

processamento rápido do sinal e uso de corretor de fundo eficiente (efeito Zeeman).

A padronização interna em GF AAS permite minimizar os erros resultantes de alterações nas variáveis instrumentais e/ou operacionais, melhorando o desempenho analítico e, além disso, pode corrigir efeitos de matriz e minimizar erros sistemáticos ou aleatórios, melhorando a exatidão e a precisão das medidas⁴⁴⁻⁴⁹, dispensando a necessidade do emprego dos métodos da adição de analito ou da compatibilização de matriz ("matrix matching"), procedimentos de calibração fundamentais quando o efeito de matriz está presente. Algumas classes de amostras, como vegetais, vinhos, urina e leite, possuem uma matriz muito diversificada, dificultando a determinação de alguns elementos, como por exemplo, Se em vegetais e leite, Pb em urina, vinho, sangue e leite, Cd em sangue. Os métodos de adição de padrão e de compatibilização de matriz são bem estabelecidos e conhecidos. Contudo, a adição de padrão demanda tempo relativamente longo nas determinações quando comparada com a calibração externa: o método exige pelo menos 8 a 10 medidas, resultantes de leituras em duplicata de 4 a 5 adições de padrão à amostra. Já a compatibilização de matriz requer diluentes de alta pureza e de composição química similar à da amostra, pré-requisitos difíceis de serem atendidos em várias situações⁴². A padronização interna apresenta-se então como uma alternativa a estes dois métodos de calibração. Os cálculos são baseados na suposição de que tanto o analito como o padrão interno têm influência similar da matriz da amostra e de que ambos são perturbados igualmente pelas alterações nas condições instrumentais ou operacionais. Portanto, se a razão sinal analítico/sinal do padrão interno é utilizada ao invés do sinal analítico apenas, há a possibilidade de compensar perturbações negativas ou positivas nos sinais⁵⁰⁻⁵¹.

Em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, alguns pré-requisitos são importantes para que um elemento seja escolhido como padrão interno^{45,50}

- i. possuir propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, ser solúvel nas soluções analíticas e amostras e que não interferir na determinação do analito^{42,50-51} (no caso de suspensões, estudo recente sugere como requisito fundamental haver adsorção quantitativa do padrão interno às partículas da amostra em suspensão⁴⁵);

- ii. estar presente na amostra em concentração não detectável, ou seja, abaixo do limite de detecção da técnica utilizada; se estiver presente em concentração acima do limite de detecção, sua concentração deverá ser corrigida nos brancos, nas soluções analíticas e nas amostras depois de ser quantificado previamente ou adicionado às soluções em grandes quantidades tornando a sua concentração original desprezível;
- iii. apresentar estabilidade térmica e processos de atomização e de modificação química similares aos do analito, para um mesmo modificador;
- iv. apresentar comportamento semelhante ao do analito em relação as variações instrumentais e/ou experimentais;

Atendendo a estes pré-requisitos, há grandes chances de seleção de um ou mais pares de elementos para atuarem como analito (ou analitos) e padrão interno (ou padrões internos).

Sendo o vinagre uma amostra complexa (Tabela 1) cuja composição química é dependente do tipo de matéria-prima empregada em sua fabricação, sua análise química na determinação de traços de metais não parece trivial. Os trabalhos encontrados na literatura sobre a determinação de Pb em vinagres empregando GF AAS sugerem pré-tratamento da amostra por meio de digestão, para eliminar a matéria orgânica da mesma antes de sua introdução no atomizador ou adição de Triton X-100 às amostras, seguida de diluição de 50 vezes²⁶⁻²⁸. Há carência de estudos a respeito da determinação direta de Pb em vinagre, com preparo da amostra *in situ* no próprio atomizador do espectrômetro, com emprego de modificador permanente e uso da padronização interna.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Padronização interna em espectrometria de absorção atômica

Considerando somente espectroscopia atômica, a padronização interna é uma estratégia muito utilizada em técnicas que permitem determinações multielementares, tais como a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)^{h51-55} e a espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)ⁱ⁵⁶⁻⁵⁸, com o propósito de corrigir erros provenientes de variações dos parâmetros instrumentais, experimentais e efeitos causados pela matriz. Os estudos que envolvem padronização interna em espectrometria de absorção atômica são menos numerosos, devido a fundamental presença de aparelhos que permitem a detecção multielementar.

Segundo Radziuk *et al.*⁵⁰, a padronização interna em espectrometria de absorção atômica foi pela primeira vez utilizada em 1965, por Massman⁵⁹ com a finalidade de minimizar problemas relacionados com a introdução da amostra via nebulização pneumática. Butler e Strasheim⁶⁰ desenvolveram, no mesmo ano, um instrumento de absorção atômica multicanal e determinaram Cu em ligas metálicas por F AAS, empregando Au como padrão interno. Desde a proposta de Massman em 1965 até o ano de 1999, todos os trabalhos feitos utilizaram equipamentos multicanais construídos em laboratório, que permitiam a detecção simultânea dos sinais. O principal papel do padrão interno nestes trabalhos foi corrigir erros provocados por variações dos parâmetros instrumentais e experimentais, como alterações das condições da chama, mudanças na eficiência de transporte e nebulização, flutuações na intensidade do feixe de radiação, interferências específicas e não específicas geradas pela matriz e erros de diluição⁶⁰⁻⁶⁷. Em trabalhos mais recentes, a padronização interna em F AAS foi aplicada para minimizar erros relacionados com a introdução direta de sólidos e suspensões⁶⁸⁻⁷⁰ e com o surgimento de um espectrômetro de absorção atômica em chama com fonte contínua e alta resolução novos estudos serão possíveis⁴⁰.

Em 1968, Smith *et al.*⁶¹ determinaram Mg, Fe e Pb, e Al, Cd e Cu, utilizando Zn e Cr como padrões internos, respectivamente, em materiais à base de zinco por

^h Do acrônimo em inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ⁱ Do acrônimo em inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

F AAS. Feldman *et al.*⁶², em 1969, compararam a determinação direta de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Si e Zn com a padronização interna (Cd, Mn, Cr ou Zn) sob os aspectos de exatidão e precisão, em amostras de cimentos, ligas metálicas e rações animais por F AAS. Feldman⁶⁵, em 1970, estudou os principais parâmetros que afetam o sinal analítico em F AAS e F AES^j, como por exemplo, composição da matriz, temperatura e taxa de aspiração e vazão de ar e combustível. Também selecionou cerca de 23 elementos que podem ser empregados como padrão interno na determinação individual de 18 metais, demonstrando a vantagem da padronização interna em várias determinações.

Em 1981, Takada e Nakano⁶⁶ tentaram estabelecer alguns critérios de seleção de padrão interno em F AAS, avaliando determinados parâmetros experimentais, com ênfase nas mudanças de condições de atomização e fatores que podem afetar uma atomização eficiente. Com o objetivo de demonstrar a influência da taxa de aspiração na atomização, os autores selecionaram 14 elementos e introduziram suas soluções individuais via nebulizador em diferentes vazões. Os pares de elementos que apresentassem maior similaridade entre seus comportamentos teriam maior probabilidade de serem escolhidos como analito e padrão interno. Constataram que os pares Cu-Ag, Cd-Zn, In-Tl, Fe-Co, Ni-Co e Ni-Sb, poderiam ser escolhidos como padrão interno-analito, ou vice-versa e que qualquer elemento escolhido para esse estudo provavelmente não seria um padrão interno adequado para Mo, Cr e Pb.

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite demorou mais tempo para se consolidar e somente após o estabelecimento das condições STPF foi possível minimizar consideravelmente as interferências espectrais e não espectrais presentes durante os processos de atomização, que prejudicavam as medidas em GF AAS. A padronização interna em GF AAS foi aplicada pela primeira vez em 1979 por Takada e Nakano⁵¹, que desenvolveram um espectrômetro multicanal e determinaram ferro, usando cobalto como padrão interno para minimizar efeitos de matriz. Os autores apresentaram a influência da concentração de potenciais interferentes no sinal atômico de Fe e na razão dos sinais atômicos de Fe e Co, e com exceção do interferente Ca, para a maioria dos elementos testados, a razão $A^{\text{Fe}}/A^{\text{Co}}$ permaneceu constante independentemente do tipo e quantidade de

^j Do acrônimo em inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*

interferente presente na matriz até $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, cerca de 100 vezes a concentração de Fe na solução. Assim, os efeitos de matriz foram corrigidos e também houve redução dos erros associados às flutuações dos parâmetros instrumentais.

Por volta de 1980, estudos envolvendo o uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica eram raros, devido à indisponibilidade de um equipamento comercial que possibilitasse medidas sequenciais ou simultâneas do analito e padrão interno e a dificuldade para selecionar um apropriado padrão interno, considerando o escasso conhecimento sobre as regras gerais para seleção do mesmo.

O desenvolvimento de um espectrômetro de absorção atômica multielementar simultâneo em forno de grafite comercial ocorreu na segunda metade da década de 80, e foi responsável pelo aumento no número de aplicações da GF AAS, inclusive pelo ressurgimento da padronização interna. Em 1999, Radziuk *et al.*⁵⁰ publicaram o primeiro trabalho sobre padronização interna com equipamento comercial disponível. O Tl e o Bi foram testados como padrões internos na determinação de Pb em amostras clínicas de urina, sangue e placenta em um espectrômetro de absorção atômica multielementar simultâneo equipado com um atomizador de grafite com aquecimento transversal e corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal. O bismuto apresentou comportamento térmico semelhante ao do Pb e sua aplicação como padrão interno melhorou o desempenho analítico, reduzindo os efeitos interferentes provocados pela matriz dessas amostras clínicas e melhorando a repetibilidade.

Em 2002, Fernandes *et al.*⁴⁹ publicaram um trabalho que avaliou o bismuto como padrão interno na determinação de Pb em vinhos, buscando ampliar o conhecimento sobre a padronização interna. Vários parâmetros que afetam a atomização foram investigados, tais como, comportamento térmico na ausência e presença de modificador químico, erros de diluição, efeitos da matriz da amostra na absorbância de Pb e Bi, tempo de vida do atomizador, e etc. Os principais benefícios associados ao uso do padrão interno neste trabalho foram o aumento de cerca de 25% do tempo de vida útil do tubo de grafite e a minimização dos erros aleatórios advindos da variação das condições instrumentais.

A primeira aplicação da padronização interna em uma determinação simultânea por GF AAS foi publicada em 2004 por Correia *et al.*⁴⁷ Neste trabalho, Cd e Pb foram determinados simultaneamente em sangue empregando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como

modificador químico e Ag, Bi e Tl foram avaliados como possíveis padrões internos. A seleção do padrão interno foi feita comparando-se os comportamentos térmicos e parâmetros físico-químicos dos analitos e possíveis padrões internos, e, além disso, com a construção de gráficos de correlação foi possível analisar quantitativamente o desempenho de cada padrão interno para um respectivo analito, considerando o grau de similaridade entre os dois elementos. O padrão interno mais apropriado para este fim analítico foi o elemento Ag, para o qual foram observados os melhores resultados dos gráficos de correlação e menores desvios padrão relativos para o Pb, 3,6% e 2,2% sem e com a padronização interna respectivamente. As recuperações também foram melhores com a aplicação da Ag como padrão interno, 81 e 91% para Cd e 80 e 93% para Pb sem e com a padronização interna, respectivamente.

A eficiência do arsênio como padrão interno na determinação de Se em águas minerais gaseificadas por GF AAS foi avaliada na presença do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ por Oliveira *et al.*⁴⁶ em 2004. A padronização interna neste caso foi eficaz na diminuição de erros de amostragem provocados pelos gases dissolvidos presentes na amostra, contribuindo na melhoria da repetibilidade, e também no aumento de aproximadamente 15% no tempo de vida útil do tubo de grafite.

Em 2005, Oliveira *et al.*⁴⁴ selecionaram Arsênio como padrão interno na determinação de Se em bebidas de relevância nutricional, leite bovino, leite de soja, leite de coco, sucos de fruta, água de coco e água mineral por GF AAS. Dois tipos de modificadores permanentes foram utilizados, W + Rh e W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, e estes aumentaram o tempo de vida útil do atomizador. A padronização interna contornou os efeitos de matriz e erros de amostragem provenientes da matriz dessas amostras complexas, constituídas principalmente de gorduras, matéria orgânica e açúcares, e conseqüentemente houve uma melhoria da exatidão e precisão dos resultados analíticos.

O desempenho de arsênio e germânio como padrões internos na determinação de Se em leite bovino por GF AAS, empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ foram comparados e ambos foram eficientes para corrigir efeitos de matriz e de amostragem, melhorando a precisão e exatidão dos resultados. Os valores de r.s.d. para uma amostra contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Se foram 1,2 e 1,0% ($n = 12$) usando As e Ge, respectivamente e 6,0% sem a aplicação da padronização interna. Os intervalos de recuperação variaram de 99–105% e 70–80% com e sem padrão interno,

respectivamente. Neste trabalho, gráficos de correlação foram utilizados como uma ferramenta para auxiliar na escolha do padrão interno⁷¹.

O arsênio também foi avaliado como padrão interno na determinação de Sb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite acoplada à geração de hidretos (HG GF AAS)¹, empregando Ir como modificador químico. A padronização interna corrigiu interferências que possam ocorrer na geração, no transporte e no trapeamento do hidreto. Como exemplo, cita-se a minimização de interferências de Co^{2+} e Ni^{2+} na absorbância de Sb. As concentrações máximas toleradas desses metais foram $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ e 100 mg L^{-1} na ausência e na presença da padronização interna, respectivamente. Os valores das recuperações ficaram entre 92-107% para soluções aquosas contendo Sb(III) e Sb(IV) e os desvios padrão relativos variaram de 0,3-0,7% e de 1,1-3,2% com e sem a padronização interna, respectivamente⁷².

A eficiência da padronização interna para a determinação simultânea de As e Se em urina por GF AAS foi investigada na presença do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ por Correia *et al.*⁷³, recentemente. Co e Sn foram selecionados como possíveis padrões internos, considerando alguns parâmetros físico-químicos relacionados com a atomização. Os resultados obtidos com os gráficos de correlação, conjuntamente com a precisão e exatidão dos resultados analíticos foram os critérios estabelecidos para a escolha do Co como o padrão interno mais apropriado. O uso do padrão interno minimizou os efeitos causados pela alta variabilidade química das diferentes amostras de urina para As, o qual é susceptível às interferências de matriz causadas pelos concomitantes da urina, principalmente fosfato. No entanto, para Se, os resultados foram menos afetados pelos efeitos de matriz e a padronização interna não contribuiu na correção de tais efeitos. As melhores condições analíticas para a determinação de As e Se foram encontradas quando a compatibilização de matriz foi usada em combinação com o Co como padrão interno.

Cobalto também foi aplicado como padrão interno para contornar erros de amostragem na determinação de níquel em refrigerantes por GF AAS, empregando $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. A precisão das medidas foi melhorada, em que os valores de r.s.d. variaram de 0,5 a 3,4% e de 1,0 a 7,0% ($n = 12$) com e sem padrão interno, respectivamente. Os intervalos de recuperação foram de 98–104% e

¹ Do acrônimo em inglês *Hydride Generation Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

78–91% com e sem padrão interno, respectivamente, demonstrando que o padrão interno melhorou a exatidão dos resultados e além disso, foi eficiente para minimizar os problemas de amostragem relacionados com os gases dissolvidos nas amostras e os efeitos de matriz⁷⁴.

O trabalho mais recente foi publicado por Su *et al.*⁷⁵. Os autores propuseram um método para determinação de Pb em sal por F AAS, após pré-concentração do Pb pela técnica da co-precipitação com APDC-Cu(II), usando níquel como padrão interno. Os efeitos de matriz foram contornados pelo método e os resultados foram satisfatórios, com os valores de recuperação para Pb entre 92 e 101%.

A Tabela 4 apresenta a relação de trabalhos científicos que estudaram a padronização interna em AAS.

Tabela 4. Relação de trabalhos científicos que estudaram a padronização interna em AAS

Analito	Padrão Interno	Amostra	Atomizador	Ano	Ref.
Cu	Au	Ligas metálicas	Chama	1965	60
Al, Cd, Cu, Fe, Mg e Pb	Cr e Zn	Zinco para fundição	Chama	1968	61
Al e Ni	Cd e Cr	Aço	Chama	1969	62
Fe, Cu, Mn, Mg e Cr	Mn e Cd	Ligas Metálicas			
Ca, Mg e Si	Zn, Cd e Cr	Cimento			
Ca e Mg	Zn e Cd	Ração animal			
Fe	Mn	Sangue	Chama	1969	63
Ca	Sr	Soro sanguíneo	Chama	1970	64
Ni	Cd	Aço	Chama	1970	65
Mn, Fe, Mg e Au	Cd, Au/Mn, Cd e Mn	Ligas metálicas			
Ca	Sr	Cimento			
Al	Cr	Criolita			
Fe	Au e Mn	Sangue			
Fe	Co	Água	Forno	1979	51
Cu, Cd, In, Fe e Ni	Ag, Zn, Tl, Co e Sb	Padrões aquosos	Chama	1981	66
Pb	Bi e Tl	Sangue, urina e placenta	Forno	1999	50
Pb	Bi	Vinho	Forno	2002	49
Cd e Pb	Ag	Sangue	Forno	2004	47
Se	As	Água mineral gaseificada	Forno	2004	46
Se	As	Bebidas	Forno	2005	44

Tabela 4. Relação de trabalhos científicos que estudaram a padronização interna em AAS

Analito	Padrão Interno	Amostra	Atomizador	Ano	Ref.
Se	As e Ge	Leites	Forno	2005	71
Sb	As	Padrões aquosos	Forno/ Geração de Hidretos	2005	72
As e Se	Co	Urina	Forno	2005	73
Ni	Co	Refrigerantes	Forno	2005	74
Pb	Ni	Sal	Chama	2006	75
Pb	Bi	Vinagre	Forno	submetido	76

3. PROPOSTA DE TRABALHO

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a potencialidade do Bi como padrão interno na determinação de Pb em vinagre por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, empregando diferentes modificadores químicos. Os principais pontos que foram alvo de estudo neste trabalho são os seguintes:

- a) Avaliar o comportamento térmico de Pb e Bi em vinagres empregando: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru sozinho, Ru com c-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificadores;
- b) Construir e avaliar gráficos de correlação entre Pb e Bi em vinagre para os diferentes modificadores com o objetivo de escolher o modificador químico mais apropriado para aplicação da padronização interna;
- c) Avaliar a influência da matriz de vinagre nas absorbâncias de Pb e Bi;
- d) Avaliar a influência da padronização interna na vida útil do tubo de grafite;
- e) Desenvolver método analítico para determinação de chumbo em vinagre.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

4.1.1 Instrumentos e acessórios

O espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite utilizado foi um Perkin Elmer, modelo SIMAA[®] 6000 (Figura 2), equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman, amostrador automático Perkin Elmer, modelo AS-72[®] e tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal (THGA[®]) contendo plataforma L'vov integrada, modelos *standard* (Figura 3) e *end-cap*.



Figura 2. Foto do forno de grafite utilizado neste trabalho.



Figura 3. Foto de um tubo de grafite THGA[®].

A parte ótica e o detector conferem a este equipamento a capacidade de detectar simultaneamente até 6 elementos. Os componentes principais desse espectrômetro estão apresentados na Figura 4⁴³. Os feixes de radiação emitidos por até quatro lâmpadas HCL^I ou EDL^m (a) são colimados e direcionados por espelhos (b) ao interior do tubo de grafite (c), onde haverá absorção parcial desses feixes por átomos gasosos no estado fundamental. Por meio de uma fenda (d), os feixes de radiação atingem o sistema dispersor do espectrômetro (e) para separá-los em função dos comprimentos de onda selecionados. Um detector de estado sólido (f) contém um arranjo de 60 fotodinodos dispostos bidimensionalmente e controlados independentemente. O detector está conectado com oito canais paralelos de processamento dos sinais e desta forma, as diferentes radiações separadas em duas dimensões são registradas⁷⁷.

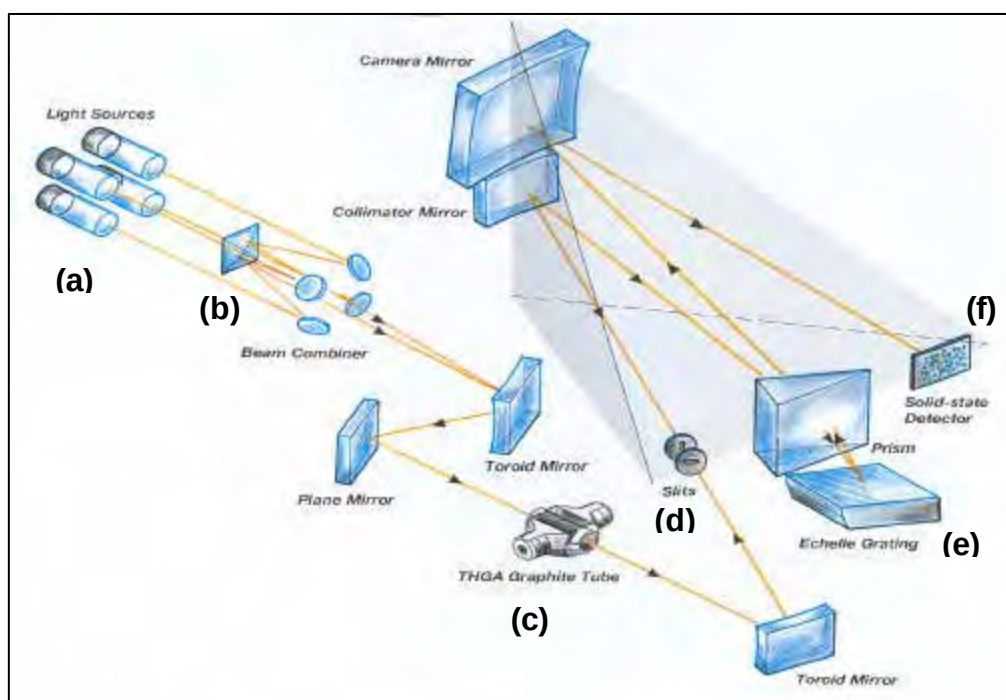


Figura 4. Diagrama com os principais componentes ópticos do espectrômetro utilizado. As letras entre parênteses correspondem a (a) lâmpadas HCL's ou EDL's; (b) espelhos; (c) tubos de grafite THGA[®]; (d) fenda; (e) sistema dispersor (prisma e grade de difração Echelle); (f) detector de estado sólido.

Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas de descarga sem eletrodo para Bi ($\lambda = 223,1$ nm) e lâmpada de cátodo oco para Pb (283,3 nm). As correntes

^I Do acrônimo em inglês *Hollow Cathode Lamp*

^m Do acrônimo em inglês *Electrodeless Discharge Lamp*

das lâmpadas aplicadas foram 10 mA e 380 mA para Pb e Bi, respectivamente; a largura da fenda espectral selecionada foi de 0,7 nm para ambas. Argônio com 99,999% de pureza (White Martins) foi empregado como gás protetor do tubo de grafite e como gás de purga a uma vazão de 250 mL min⁻¹.

Para a digestão das amostras foi utilizado um forno de microondas Perkin Elmer - Anton Paar Multiwave[®] (Graz, Austria) equipado com frascos de quartzo com capacidade de 50 mL (Figura 5).

Entre outros equipamentos e materiais volumétricos utilizados destacam-se a balança analítica Sartorius BL 210 S e as micropipetas Eppendorf (100 – 1000 µL), Boeco (5 - 100 µL).

4.1.2 Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados.

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ cm) obtida a partir de um sistema de osmose reversa Millipore Rios 5[®] combinado com desionizador Millipore Milli-Q academic[®].

Ácido Nítrico Suprapur[®] (Merck) foi utilizado para o preparo de todas as soluções.

Soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ Pb e Bi foram preparadas a partir dos respectivos padrões espectroscópicos *Normex*[®] (Carlo Erba) por diluição do conteúdo das ampolas em 1000 mL de água. As soluções estoque foram armazenadas em frascos de polipropileno de alta densidade e sob refrigeração. As soluções analíticas (2,5 – 20,0 µg L⁻¹) foram preparadas diariamente pela diluição apropriada das soluções estoque monoelementares.

Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Pd foi preparada a partir da diluição apropriada da solução estoque 10000 mg L⁻¹ Pd(NO₃)₂ (Merck). Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Mg foi preparada por dissolução de 100 mg do sal Mg(NO₃)₂.6H₂O Suprapur[®] (Merck), em cerca de 3 mL de água e diluição a 10 mL com água.

Solução do modificador químico contendo 1% (m/v) NH₄H₂PO₄ foi preparada pela dissolução de 1,0 g do sal NH₄H₂PO₄ Suprapur[®] (Merck) em 100 mL de água.

Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ W foi preparada pela dissolução de 0,1794 g Na₂WO₄.2H₂O (Merck) em cerca de 40 mL de água, seguida

de diluição a 100 mL. Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Ru (Fluka Chemical) foi utilizada sem prévia diluição.

As 18 amostras de vinagres foram adquiridas em diferentes supermercados da cidade de Araraquara-SP e compreenderam as seguintes marcas: vinagre de limão Castelo, vinagre agrin de vinho branco Castelo, vinagre de álcool Extra, vinagre de vinho branco Belmont, vinagre agrin de vinho branco Extra, vinagre agrin de vinho branco Belmont, vinagre de vinho branco com ervas aromáticas Belmont, vinagre de maçã Belmont, vinagre de arroz Daiti, vinagre de vinho tinto Extra, vinagre de arroz Castelo, vinagre de maçã Natu's, vinagre agrin de vinho tinto Chemim, vinagre balsâmico Castelo, vinagre de álcool Belmont, vinagre de maçã Extra, vinagre agrin de vinho tinto Extra e vinagre de arroz Natu's.

Dois materiais de referência certificados (1640 Trace Elements in Natural Water; 1643d Trace Elements in Water), da *National Institute of Standards and Technology* (Gaithersburg, MD, USA) foram também analisados após diluição (1 + 4, v/v) em vinagre, para verificar a exatidão do método proposto.

4.1.3 Preparo das amostras

Na otimização do método para a determinação de Pb em vinagre por GF AAS estudaram-se curvas de temperatura de pirólise e de atomização, gráficos de correlação, influência da matriz de vinagre na absorbância e o tempo de vida útil do tubo de grafite. Para a construção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização, para a construção de gráficos de correlação e para o estudo da vida útil do tubo de grafite as amostras foram preparadas da seguinte maneira: alíquotas de 5 mL da amostra de vinagre + 250 µL de Pb 1 mg L⁻¹ + 500 de Bi 1 mg L⁻¹ + 20 µL de HNO₃ foram adicionadas a um balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com água deionizada, resultando em uma solução (1 + 1, v/v) de vinagre contendo 25 µg L⁻¹ Pb, 50 µg L⁻¹ Bi e 0,2% v/v HNO₃.

Nos estudos relativos à influência de matriz, a amostra foi injetada no forno de grafite diretamente pelo amostrador automático sem qualquer preparo prévio. Na avaliação da influência da padronização interna nas calibrações em diferentes meios, curvas analíticas foram construídas nos intervalos de 0,0 a 20,0 µg L⁻¹ Pb [W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂] e de 0,0 e 15,0 µg L⁻¹ Pb [Ru com co-

injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$]. Em balões volumétricos de 10 mL foram injetadas alíquotas de 500 μL de Bi 1 mg L^{-1} + 25 – 200 μL de Pb 1 mg L^{-1} nos seguintes meios: a) 0,2% (v/v) HNO_3 , b) vinagre agrin de vinho branco (1+1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 , c) vinagre agrin de vinho tinto (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 .

As amostras comerciais de vinagre foram analisadas diretamente e após digestão em forno de microondas. O preparo das amostras para a análise direta foi feito diretamente no amostrador automático do espectrômetro, por meio de injeções sequenciais de: 10 μL de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi + 10 μL de amostra de vinagre + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, sobre a plataforma modificada com Ru. Os materiais de referência certificados foram preparados pela adição de uma alíquota de 2 mL de SRM + 8 mL de vinagre + 250 μL de solução 1 mg L^{-1} Bi + 20 μL de HNO_3 a um balão de 10 mL, resultando em uma solução (1 + 4, v/v) de SRM em vinagre contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Bi e 0,2% v/v HNO_3 .

Para fins de comparação de resultados, as amostras de vinagre foram digeridas com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio com aquecimento assistido por radiação microondas. Alíquotas de 5 mL de amostra + 2 mL de ácido nítrico concentrado + 1 mL de H_2O_2 30% (m/m) foram transferidas para os frascos de quartzo com capacidade para 50 mL (Figura 5a), e em seguida acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica, dispostos no rotor do forno de microondas (Figura 5b) e submetidos ao programa de aquecimento descrito na Tabela 5 (Figura 5c). As amostras digeridas foram transferidas para um balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com água desionizada. Então alíquotas de 20 μL destas soluções + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foram injetadas sobre modificadas com W ou Ru.

Tabela 5. Programa otimizado do forno de microondas para a digestão das amostras de vinagre.

Etapa	Potência inicial, W	Potência final, W	Tempo, min
1	100	600	5
2	600	600	5
3	1000	1000	10
4	0	0	15

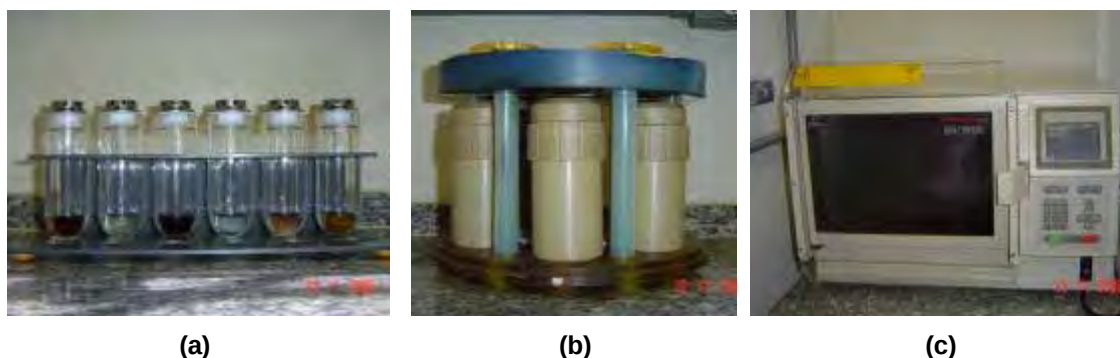


Figura 5. Foto do procedimento para a digestão das amostras em microondas: (a) frascos de quartzo com capacidade para 50 mL contendo 5 mL de amostra + 2 mL de ácido nítrico concentrado + 1 mL de H_2O_2 30% (m/m); (b) frascos de quartzo acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica e dispostos no rotor do forno de microondas; (c) amostras submetidas ao programa de aquecimento do forno de microondas descrito na Tabela 5.

4.1.4 Descontaminação e armazenamento

Os copinhos do auto-amostrador AS-72, os balões volumétricos, frascos para armazenamento de soluções, entre outros utilizados no preparo de soluções, foram deixados imersos em solução 10% (v/v) HNO_3 e enxaguados abundantemente com água desionizada antes do uso. Todas as soluções e amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno de alta densidade (Nalgene, Rochester, U.S.A) descontaminados e sob refrigeração.

4.2 Método

4.2.1 Estudo do comportamento eletrotérmico de Pb e Bi em diferentes modificadores

Um estudo sobre o comportamento eletrotérmico de Pb e Bi em diferentes modificadores químicos foi feito para avaliar a potencialidade do padrão interno na determinação de Pb em vinagre. Os modificadores químicos selecionados foram:

a) modificadores convencionais:

- 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$;
- 5 μL de solução 10000 mg L^{-1} $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$;
- 7 μL de solução combinada $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ + 5 μL de solução 10000 mg L^{-1} $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$;

b) modificador permanente sem co-injeção:

- 500 μg Ru

c) modificadores permanentes com co-injeção:

- 500 μg Ru + 5 μL de solução 10000 mg L^{-1} $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$;
- 500 μg Ru + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$;
- 250 μg W + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

A otimização do programa de aquecimento foi feita a partir do programa proposto por Ndung'u *et. al.*²⁷ e utilizado para determinar Pb em vinagres balsâmicos digeridos.

Curvas de temperatura de pirólise e atomização para Pb e Bi em amostras de vinagre foram construídas com o intuito de avaliar a similaridade térmica dos elementos nos diferentes modificadores químicos empregados. As curvas de temperatura de pirólise em presença dos modificadores químicos foram obtidas fixando-se a temperatura de atomização e variando-se a de pirólise em intervalos de 200°C, a partir de 400°C. Fixou-se então a temperatura de pirólise ótima e variou-se a temperatura de atomização em intervalos de 200°C, a partir de 1200°C. O programa de aquecimento otimizado para todos os modificadores está ilustrado na Tabela 6. O tempo total de um ciclo de aquecimento é de 124 s, a temperatura do

tubo no momento da injeção era de 20°C; e a amostra foi introduzida a uma velocidade de injeção equivalente a 60% da máxima.

Tabela 6. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento térmico de Pb e Bi em diferentes modificadores.

Etapa	T, °C	Rampa, s	Patamar, s	Vazão de Ar, mL min⁻¹	Leitura
Secagem	110	5	30	250	Não
Secagem	130	5	30	250	Não
Pirólise	Tp [*]	15	30	250	Não
Atomização	Ta [*]	0	5	0	Sim
Limpeza	2450	1	3	250	Não

* Tp, Ta = 1000°C, 1800°C (Pd + Mg); 650°C, 1700°C (NH₄H₂PO₄ + Mg); 600°C, 1700°C (Pd/Mg + NH₄H₂PO₄); 600°C, 1700°C (Ru); 1000°C, 2000°C (Ru + Pd/Mg); 600°C, 1700°C (Ru + NH₄H₂PO₄); 1000°C, 1800°C (W + Pd/Mg).

Todas as curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Pb e Bi na presença dos diferentes modificadores químicos foram construídas injetando-se inicialmente 20 µL de vinagre (1 + 1, v/v) contendo 25 µg L⁻¹ Pb, 50 µg L⁻¹ Bi e 0,2% v/v HNO₃. O branco neste experimento foi 20 µL de solução de vinagre (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO₃. As medidas para este estudo foram feitas em triplicata.

Para recobrir a plataforma do tubo de grafite com Ru, uma alíquota de 50 µL da solução padrão 1000 mg L⁻¹ foi depositada sobre a mesma. Repetiu-se este processo 10 vezes para depositar uma massa de 500 µg Ru. Para recobrir com 250 µg W, o procedimento anterior foi repetido apenas 5 vezes. O programa de aquecimento do tubo de grafite para recobrir a plataforma do mesmo com Ru e W está apresentado na Tabela 7⁷⁸.

Tabela 7. Programa de aquecimento do tubo de grafite usado para depositar os modificadores permanentes Ru e W.

Etapas	Temperatura, ° C	Tempo de rampa, s	Tempo de permanência, s	Fluxo de gás, mL min ⁻¹
1	110	5	25	250
2	150	10	25	250
3	600	10	20	250
4	1200	10	20	250
5	2000	3	2	250
6	2200	0	5	0

4.2.2 Obtenção dos gráficos de correlação

O gráfico de correlação permite avaliar preliminarmente o desempenho de um padrão interno e foi empregado pela primeira vez em 1993 em ICP OES⁷⁹.

Foram feitas 20 medidas consecutivas de uma solução de vinagre (1 + 1, v/v) contendo 25 µg L⁻¹ Pb + 50 µg L⁻¹ Bi em meio 0,2% (v/v) HNO₃ na presença dos modificadores químicos potenciais. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de 20 µL de solução de vinagre (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO₃ na presença dos modificadores químicos potenciais. Estas medidas foram obtidas com o programa de aquecimento descrito na Tabela 6. As absorbâncias obtidas para Pb e Bi foram normalizadas em relação aos primeiros valores respectivos de cada conjunto de medidas. A partir deste novo conjunto de valores construíram-se então os gráficos de absorbância normalizada para Pb (eixo das abscissas) *versus* absorbância normalizada para Bi (eixo das ordenadas).

Os coeficientes de correlação lineares obtidos com esses gráficos serviram de ferramenta auxiliar importante na avaliação do potencial de Bi como padrão interno para a determinação de Pb em vinagre em relação aos modificadores selecionados.

Com o estudo do comportamento térmico do Pb e Bi e dos gráficos de correlação, avaliou-se a potencialidade do Bi como padrão interno para determinação de Pb em vinagres nos diferentes modificadores. Assim, foi possível escolher o modificador ótimo por meio da análise das temperaturas de pirólise e de atomização, das sensibilidades obtidas, dos perfis dos sinais transientes, dos sinais

de fundo, dos desvios padrões relativos e dos coeficientes de correlação lineares obtidos com os gráficos de correlação.

4.2.3 Influência da matriz de vinagre na absorbância

A influência da matriz de diferentes amostras de vinagre na absorbância de Pb e Bi empregando ou não a padronização interna foi avaliada em presença de W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. A correlação entre as absorbâncias de Pb e Bi em função de 14 diferentes amostras de vinagre foi avaliada por meio da injeção de 10 μL de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Bi + 10 μL de amostra de vinagre + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 3 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma do tubo pré-tratada com W ou Ru. O branco neste experimento foi 10 μL de solução 0,4% (v/v) $\text{HNO}_3 + 10 \mu\text{L}$ de amostra de vinagre + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 3 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma do tubo pré-tratada com W ou Ru. As medidas foram feitas em triplicata. Gráficos de absorbância de Pb e de Bi *versus* tipo de amostra foram construídos com o intuito de avaliar a similaridade do comportamento desses elementos frente a diferentes matrizes de vinagre.

Curvas analíticas foram construídas nos intervalos de 0,0 a 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb [W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$] e de 0,0 e 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb [Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$] ambos em presença de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Bi nos seguintes meios: a) 0,2% (v/v) HNO_3 , b) vinagre agrin de vinho branco (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 , c) vinagre agrin de vinho tinto (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 . Gráficos de A^{Pb} vs [Pb] e $A^{\text{Pb}}/A^{\text{Bi}}$ vs [Pb] foram construídos para avaliar a influência da padronização interna nas calibrações nos diferentes meios.

4.2.4 Padronização interna e Vida útil do tubo de grafite

A avaliação da vida útil do tubo de grafite foi feita ao longo de ciclos de aquecimento sucessivos até a completa ruptura do tubo. Este procedimento foi conduzido somente na presença de Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Alíquotas de 20 μL de solução de vinagre (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 contendo

25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Bi + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foram injetadas sobre a plataforma modificada. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de 20 μL de solução de vinagre (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma do tubo pré-tratada com Ru. O programa de aquecimento do tubo de grafite foi o descrito na Tabela 6. Gráficos de A^{Pb} , A^{Bi} e da razão $A^{\text{Pb}}/A^{\text{Bi}}$ vs ciclos de aquecimento foram construídos com a finalidade de avaliar a influência da padronização interna na vida útil do tubo de grafite.

4.2.5 Determinação de chumbo em vinagres comerciais

4.2.5.1 Determinação direta de Pb em vinagres comerciais empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e padronização interna

Foram analisadas 18 amostras de vinagre e dois materiais de referência certificados (SRM)ⁿ do *National Institute of Standards and Technology* (Gaithersburg, MD, USA): Trace Elements in Natural Water 1640 e Trace Elements in Water 1643d. Injetou-se 10 μL da amostra + 10 μL de uma solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma pré-tratada com Ru. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de 10 μL de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi + 10 μL de água deionizada + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Para os materiais de referência certificados, injetou-se 20 μL de uma solução (1 + 4, v/v) de SRM em vinagre contendo 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi e 0,2% (v/v) HNO_3 + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma pré-tratada com Ru. O branco neste caso, foi obtido pela injeção de 20 μL de solução (1 + 4, v/v) de 0,2% (v/v) HNO_3 em vinagre contendo 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi + 5 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μL de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma pré-tratada com Ru. A curva analítica (0,0 – 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb) foi construída com soluções analíticas preparadas em meio 0,2%

ⁿ Do acrônimo em inglês *Standard Reference Material*

(v/v) HNO_3 contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi e em meio de vinagre (1 + 1, v/v) + 0,2% (v/v) HNO_3 com e sem padronização interna, e com compatibilização de matriz, respectivamente. As medidas foram feitas em quadruplicata.

A exatidão também foi avaliada com teste de adição e recuperação de padrão em amostras sem e com a aplicação da padronização interna. Foi injetado ao tubo pré-tratado com Ru $10 \mu\text{L}$ de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi + $10 \mu\text{L}$ de amostra de vinagre + $5 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de $10 \mu\text{L}$ de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi + $10 \mu\text{L}$ de amostra de vinagre + $5 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{L}$ de solução 1000 mg L^{-1} $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. A repetibilidade do método foi avaliada por meio da estimativa do desvio padrão relativo de 12 medidas sucessivas da absorbância de Pb e de Bi referentes a uma solução de vinagre (1 + 1, v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi.

A estimativa do desvio padrão foi calculada de acordo com a equação 4.⁸⁰

$$s.d. = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}} \quad (4)$$

Onde:

$s.d.$ = desvio padrão

X_i = valor individual de uma medição

$\bar{X}$ = média das determinações

N = número de determinações

O desvio padrão relativo (r.s.d.)^o foi calculado de acordo com a Equação 5.⁸⁰

$$r.s.d = \frac{s.d.}{\bar{X}} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

$s.d.$ = desvio padrão

$\bar{X}$ = média das determinações

Os resultados das determinações e dos testes de adição e recuperação foram avaliados por meio de testes estatísticos. A concordância entre as médias foi verificada pelo teste t de *Student* e as variâncias foram comparadas por meio do teste F ⁸⁰⁻⁸².

Os resultados das análises das amostras foram comparados por meio do teste t de acordo com a Equação 6, para verificar se existe diferença significativa entre as médias dos resultados obtidos pelos métodos propostos⁸².

$$t_{calc} = \frac{d}{S_{agrupado}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (6)$$

$$S_{agrupado} = \sqrt{\frac{s^2_1(n_1-1) + s^2_2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Onde: d é a diferença entre os valores das médias de cada método, s é o desvio padrão das médias, n é o número de repetições, t_{calc} é comparado com o $t_{tabelado}$ para $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, $S_{agrupado}$ é o desvio-padrão agrupado fazendo uso de ambos os grupos de dados.

^o Do acrônimo em inglês *Relative Standard Deviation*

Os resultados encontrados pela análise dos materiais de referência certificados foram comparados com os valores certificados por meio do teste *t de Student*⁸² de acordo com a Equação 7, para verificar se existe diferença significativa entre os resultados obtidos pelos métodos propostos.

$$t_{calc} = \frac{|\bar{X} - \text{valor conhecido}|}{s.d.} \sqrt{n} \quad (7)$$

Onde:

$\bar{X}$ = média das determinações

$s.d.$ = desvio padrão

n = número de determinações

A concordância entre as médias foi verificada pela comparação do $t_{calculado}$ com o $t_{tabelado}$, pois se $t_{calculado} > t_{tabelado}$ ao nível de confiança de 95%, os dois resultados são considerados diferentes.

O teste F ⁸⁰⁻⁸¹ foi usado para comparar as precisões dos conjuntos de dados obtidos pelos métodos propostos. Calcula-se pela equação 8:

$$F = \frac{S_a^2}{S_b^2} \quad (8)$$

Onde: S_a^2 é o desvio padrão do conjunto de dados a e S_b^2 é o desvio padrão do conjunto de dados b.

Se $F_{calculado} < F_{tabelado}$ é possível concluir que não há diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança.

A massa característica (m_0), que corresponde à massa de um elemento (em pg) que absorve 1% da potência da radiação analítica incidente, foi calculada pela expressão:

$$m_0 = \frac{(\text{Volume injetado, } \mu\text{L}). (\text{Concentração, } \mu\text{g/L}). (0,0044)}{(Abs_{integrada \text{ amostra}}) - (Abs_{integrada \text{ branco}})} \quad (9)$$

O limite de detecção (L.O.D)^p é a concentração mínima de uma solução de um elemento, que pode ser claramente diferenciada de zero e que produz um sinal de absorção igual a três vezes o desvio padrão s.d. de 10 ou mais medidas do sinal observado para um branco da amostra⁸³⁻⁸⁴.

O cálculo do limite de detecção foi feito de acordo com a equação:

$$L.O.D. = \frac{3 \text{ s.d.}_{branco}}{b} \quad (10)$$

Onde: $s.d._{branco}$ corresponde ao desvio padrão das medidas do branco e b ao coeficiente angular da curva analítica de calibração.

O limite de quantificação (L.O.Q)^q representa o menor valor quantificável da concentração de um elemento em solução, que produz um sinal de absorção com desvio padrão relativo (r.s.d.), geralmente de 10% o qual pode ser obtido multiplicando-se por dez o desvio padrão (s.d.) de 10 ou mais medidas do sinal observado para um branco da amostra⁸³⁻⁸⁴. Recomenda-se calcular L.O.D e L.O.Q através dos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável.

^p Do acrônimo em inglês *Limit of Detection*

^q Do acrônimo em inglês *Limit of Quantification*

O cálculo do limite de quantificação foi feito de acordo com a equação:

$$L.O.Q. = \frac{10 \text{ s.d.}_{\text{branco}}}{b} \quad (11)$$

Onde: $\text{s.d.}_{\text{branco}}$ corresponde ao desvio padrão das medidas do branco e b ao coeficiente angular da curva analítica de calibração.

4.2.5.2 Determinação alternativa direta de Pb em vinagres comerciais empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

No caso do W, também foram analisadas 18 amostras de vinagre e dois materiais de referência certificados. A calibração ($0,0 - 20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) foi feita em meio 0,2% (v/v) HNO_3 sem a aplicação da padronização interna. As medidas foram feitas em quadruplicata.

Para o tubo pré-tratado com W, foram adicionados $10 \mu\text{L}$ da amostra + $10 \mu\text{L}$ de uma solução 0,4% (v/v) HNO_3 + $5 \mu\text{L}$ 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 branco neste experimento foi obtido pela injeção de $10 \mu\text{L}$ de solução 0,4% (v/v) HNO_3 + $10 \mu\text{L}$ de água deionizada + $5 \mu\text{L}$ 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 materiais de referência certificados, injetou-se $20 \mu\text{L}$ de uma solução (1 + 4, v/v) de SRM em vinagre contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + $5 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma pré-tratada com W. O branco neste caso, foi obtido pela injeção de $20 \mu\text{L}$ de solução (1 + 4, v/v) de 0,2% (v/v) HNO_3 em vinagre + $5 \mu\text{L}$ 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 o teste de adição e recuperação, injetou-se $10 \mu\text{L}$ de solução 0,4% (v/v) HNO_3 contendo $4 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb + $10 \mu\text{L}$ de amostra de vinagre + $5 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sobre a plataforma pré-tratada com W. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de $10 \mu\text{L}$ de solução 0,4% (v/v) HNO_3 + $10 \mu\text{L}$ de amostra de vinagre + $5 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $3 \mu\text{L}$ de solução $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

A repetibilidade do método foi avaliada por meio da estimativa do desvio padrão relativo de 12 medidas sucessivas da absorbância de Pb referente a uma solução e vinagre (1 + 1, v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb.

A avaliação estatística dos resultados foi feita como descrito anteriormente para o método empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e padronização interna.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros físico-químicos e mecanismos de atomização e modificação química

Um pré-requisito fundamental para que um elemento seja escolhido como padrão interno é que ele possua propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, tais como, número atômico, massa molar, temperatura de fusão, temperatura de ebulição, calor de vaporização, energia de ativação para atomização de óxidos e energia de dissociação do analito à partir do óxido e do cloreto. Na tabela 8, encontram-se alguns parâmetros físico-químicos para o par Pb – Bi, e a análise desta revela que esses parâmetros são semelhantes, sugerindo o potencial da padronização interna. De fato a escolha de elementos que apresentem tais constantes físico-químicas semelhantes parece ser essencial no êxito da aplicação da padronização interna. Esse par de elementos já foi estudado com sucesso em diferentes amostras, tais como, amostras de sangue, urina, placenta e vinho⁴⁹⁻⁵⁰.

Tabela 8. Parâmetros físico-químicos para Pb e Bi e seus óxidos e cloretos⁵⁰

Parâmetros	Bi	Pb
Número atômico	83	82
Massa molar	209	207
Ponto de fusão (°C)	272	328
Ponto de ebulição (°C)	1552	1740
Calor de vaporização (kJ mol ⁻¹)	199	196
Modificador químico	Pd + Mg	Pd + Mg
Temperatura de pirólise (°C)	1100	1000
Temperatura de atomização (°C)	1700	1600
	Bi ₂ O ₃ (s)	PbO (s)
Energia de ativação para atomização do elemento a partir do óxido (kJ mol ⁻¹)	257	268
Energia de dissociação de MO _(g) (kJ mol ⁻¹)	339	372
Ponto de fusão do MO _(g) (°C)	820	888
Ponto de ebulição do MO _(g) (°C)	1890	-----
	BiCl ₃ (s)	PbCl ₂ (s)
Energia de dissociação de MCl _(g) (kJ mol ⁻¹)	301	297
Ponto de fusão do MCl _(g) (°C)	230-232	501
Ponto de ebulição do MCl _(g) (°C)	447	950

Se os processos de atomização e de modificação química do analito e do padrão interno forem semelhantes, a possibilidade de correção ou minimização das interferências causadas pela matriz será maior, devido à similaridade dos processos de formação dos precursores e por esses processos serem afetados de maneira semelhante pelas interferências de matriz.

Existem inúmeros trabalhos na literatura sobre mecanismos de atomização em GF AAS, porém divergências são encontradas entre as teorias e hipóteses apresentadas por eles. Para Pb, por exemplo, diversos mecanismos são propostos na literatura, incluindo dissociação do PbO_(s) em fase condensada, evaporação

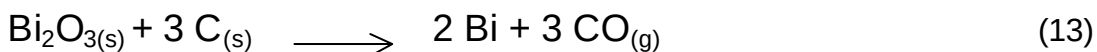
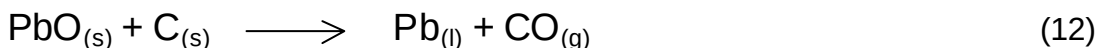
direta do metal reduzido, dissociação de $\text{PbO}_{(g)}$ e dissociação de dímeros de Pb na fase gasosa⁸⁵.

Os mecanismos de atomização mais aceitos para Pb e Bi no forno de grafite podem ser explicados por meio das propriedades físico-químicas, dados termodinâmicos e cinéticos e pelas temperaturas de aparecimento dos sinais de absorção atômica desses elementos.

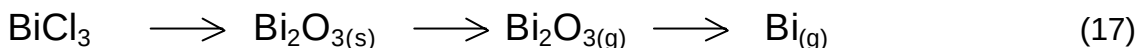
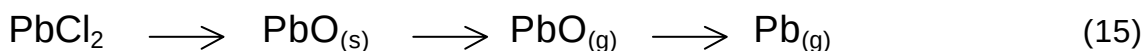
Se ocorrer a formação de um óxido pela decomposição de um nitrato ou sulfato, ou pela hidrólise de um cloreto⁸⁶⁻⁸⁸, os mecanismos de atomização podem ocorrer por duas vias distintas:

- 1) dissociação térmica do óxido metálico;
- 2) redução do óxido no tubo pela superfície gráfitica, seguida da vaporização do metal.

A segunda via leva a formação de átomos gasosos e é controlada pela energia livre de Gibbs (ΔG) da reação de redução na superfície gráfitica. Se $\Delta G < 0$, a reação é termodinamicamente favorável, mas isto não indica a velocidade da mesma. Quando as reações de redução são rápidas, a redução do metal pode ser transferida para a fase gasosa pela vaporização direta. Entretanto, se essas reações são lentas, como é o caso para Pb e Bi⁸⁹, a atomização ocorrerá pela dissociação do óxido do metal. Os valores de ΔG° para as reduções de $\text{PbO}_{(s)}$ e $\text{Bi}_2\text{O}_{3(s)}$ pela superfície gráfitica são -92 KJ mol^{-1} e -377 KJ mol^{-1} , respectivamente⁸⁹. Os valores de ΔG demonstram que as reações de redução são termodinamicamente possíveis, porém a grafite não age como um agente redutor nas reações de redução:



O processo de redução pelo grafite é mais lento que o processo de dissociação térmica do metal, e por isso, a principal via de formação de átomos gasosos no estado fundamental de Pb e Bi é a dissociação térmica de $\text{PbO}_{(g)}$ e $\text{Bi}_2\text{O}_{3(g)}$ ⁸⁹, com energias de dissociação de 380 KJ mol^{-1} e 344 KJ mol^{-1} , respectivamente⁹⁰. Nas equações 14 e 15 estão descritos os mecanismos de atomização para Pb e nas equações 16 e 17 os mecanismos para Bi⁸⁷⁻⁸⁹.



Como comentado anteriormente, a semelhança entre os mecanismos do analito e do padrão interno é relevante, pois a possibilidade de correção de interferências causadas pela matriz é maior. Na avaliação do Bi como padrão interno na determinação de Pb em amostras de vinagre por GF AAS, sete modificadores químicos foram testados, como citado em 4.2.1.

Os mecanismos de atomização para o par analito e padrão interno, diferir em função do modificador químico. Portanto, o modificador químico pode alterar significativamente a eficiência da padronização interna, devido à mudança nos processos de atomização e modificação.

Os modificadores convencionais, geralmente são soluções que são adicionadas ao atomizador conjuntamente à solução da amostra em cada ciclo de aquecimento. Apresenta como principal vantagem uma melhor interação com os analitos, principalmente, na análise direta de amostras complexas que contém altos teores de matéria orgânica. No entanto, como desvantagens é possível citar a necessidade de reagentes de alta pureza, programas de aquecimentos mais longos e menor tempo de vida útil do tubo de grafite⁹¹⁻⁹⁴.

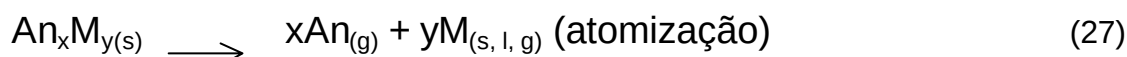
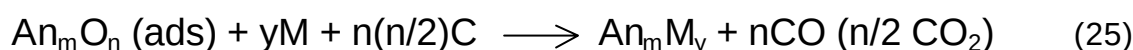
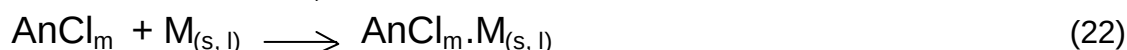
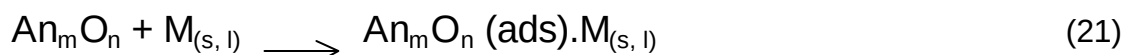
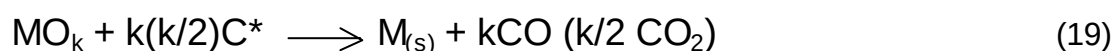
De uma forma geral, os mecanismos de atomização dos analitos na presença dos modificadores convencionais, seguem dois caminhos principais:

- redução por grafite catalisada por metais do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh e Ru);
- participação do modificador, formando compostos intermetálicos ou não com o analito, que em seguida são dissociados ou reduzidos por Carbono;

Na modificação permanente utiliza-se uma massa maior de metal com um ponto de ebulição elevado que pode ser depositado física, térmica, ou eletroquimicamente sobre a superfície do tubo de grafite⁹¹. Geralmente os modificadores permanentes em potencial são os metais do grupo da platina (PGM) e os metais formadores de carbetos (B, Hf, Mo, Nb, Si, Re, Ta, Ti, V, W e Zr)⁹⁵⁻⁹⁶. Esse

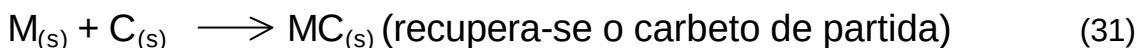
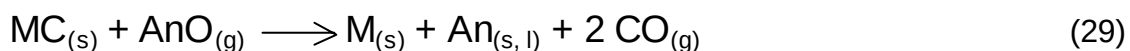
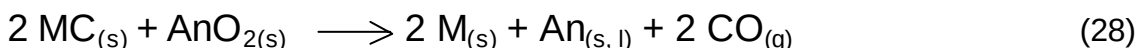
tipo de modificação química oferece algumas vantagens, como a possibilidade do uso de reagentes de pureza moderada, a minimização do tempo total de análise, aumento do tempo de vida útil do tubo de grafite e a utilização do atomizador como aprisionador de hidretos⁹¹.

Um mecanismo genérico bastante aceito e que explica com bastante detalhes os processos que ocorrem no atomizador na presença dos PGM foi proposto por Volynsky⁹³, em que An é o analito e M o modificador:



Nas etapas 1 e 2 (18 e 19) o modificador químico é reduzido sobre o carbono, formando o metal que estabilizará termicamente os analitos. Estas etapas ocorrem entre 800 e 1000 °C e seus precursores podem ser o cloreto ou o óxido dos analitos. Nas etapas 4 e 5 (21 e 22) ocorre a formação de um composto de intercalação que nas etapas 6, 7 e 8 (23, 24 e 25) é reduzido pelo carbono, liberando dióxido e monóxido de carbono. A adsorção dos compostos aos óxidos dos PGMs também é possível, mesmo não estando representada. Formam-se compostos intermetálicos, pela interação dos analitos com os modificadores, nas etapas 9 e 10 (26 e 27) e estes são atomizados.

Os metais formadores de carbeta atuam nas reações de redução de óxidos dos analitos por carbono como catalisadores. Um possível mecanismo^{93,97} está descrito a seguir, em que An = Ge, Pb, In, Sn e M= W e Zr:



A redução dos óxidos dos analitos pode ocorrer de maneira homogênea (28) ou de maneira heterogênea (29) pelos carbeto metálicos, produzindo analitos em fase condensada, que provavelmente ficam adsorvidos na superfície metálica e na sequência são vaporizados originando átomos gasosos no estado fundamental (30). Em seguida, acontece à regeneração do carbeto metálico por uma reação de consumo de carbono, possivelmente carbono do tubo de grafite⁹³.

Embora os modificadores permanentes proporcionem algumas vantagens sobre os modificadores convencionais, em vários casos, principalmente em análises diretas, a interação entre o modificador e o analito fica prejudicada devido a matriz da amostra. Esse problema pode ser contornado com a co-injeção de PGM sobre a plataforma pré-tratada com modificadores permanentes, pois favorece a interação destes com os analitos, estabilizando de maneira mais efetiva o analito, resultando em temperaturas de pirólise mais elevadas, em que possivelmente obtêm-se uma maior degradação da matriz. Consequentemente os sinais de fundo são minimizados e melhores limites de detecção são atingidos^{37,93}.

O mecanismo de ação deste tipo de modificação química, segundo algumas propostas da literatura, compreende a redução do óxido do analito pela superfície gráfica catalisada por carbeto metálico, por exemplo, seguida da formação de compostos de intercalação. Estes compostos sofrem dissociação ou difusão com parcial evaporação do modificador e os analitos são atomizados^{45,98}.

Da mesma forma que conhecer as propriedades físico-químicas do analito e possível padrão interno é importante para prever a eficácia da padronização interna, o conhecimento prévio do mecanismo envolvido entre analito, possível padrão interno e um determinado modificador químico é muito importante para avaliar preliminarmente a possibilidade do emprego da padronização interna neste modificador.

5.2 Estudo do comportamento térmico de Pb e Bi em diferentes modificadores

O comportamento térmico de Pb e Bi em amostras de vinagre foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização na presença dos diferentes modificadores.

Os elementos Pb e Bi são relativamente voláteis. Desta forma, o uso de modificadores químicos torna-se imprescindível para estabilizar termicamente o Pb e o Bi em temperaturas mais altas, possibilitando uma satisfatória eliminação da maior parte da matriz, reduzindo as interferências.

5.2.1 Modificadores convencionais

5.2.1.1 Modificador Universal - $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

O modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foi utilizado com sucesso para a determinação de Pb em vinho utilizando Bi como padrão interno³⁰. Desta forma, supondo preliminarmente que as matrizes de vinho e vinagre são semelhantes, iniciou-se o estudo do comportamento térmico de Pb e Bi na presença deste modificador. O comportamento térmico de Pb e Bi em amostra de vinagre diluído (1 + 1, v/v) em 0,2% (v/v) HNO_3 na presença do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ está ilustrado pelas curvas de temperatura de pirólise e de atomização da Figura 6.

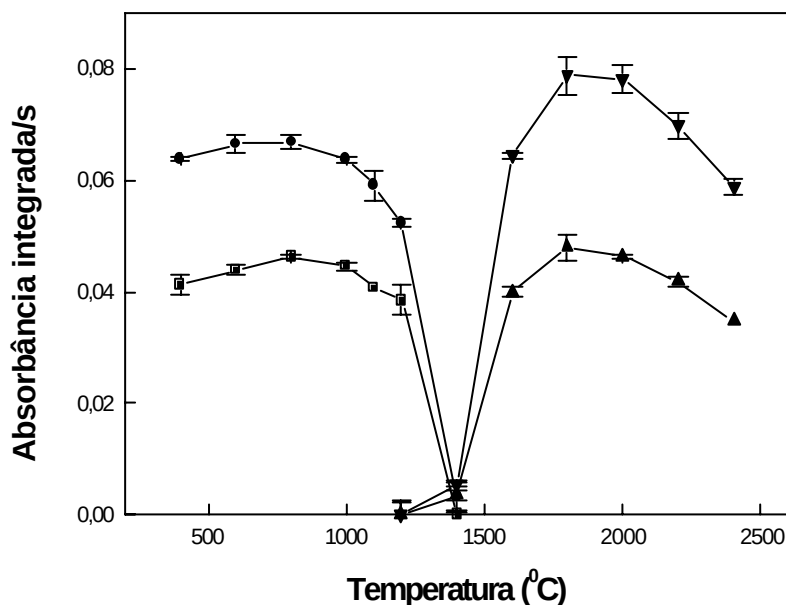


Figura 6. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 empregando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de atomização.

Análise da Figura 6 revela que os comportamentos térmicos de Pb e Bi são semelhantes quando em presença do modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Esses elementos foram estabilizados termicamente até 1000°C, e apresentaram como temperatura de atomização ótima, 1800°C. Este comportamento semelhante é necessário em medidas simultâneas, como no caso da padronização interna em GF AAS, pois o programa de aquecimento é comum a todos os elementos.

Com as temperaturas de pirólise e de atomização definidas, foi possível otimizar as outras etapas do programa de aquecimento, como os tempos de rampa e permanência nas etapas de secagem e de pirólise, visando minimizar a intensidade do sinal de fundo e o tempo de um ciclo analítico. Outros parâmetros de otimização foram a velocidade de injeção da amostra, a temperatura do forno de grafite durante a injeção e o volume de amostra injetado.

Um outro parâmetro analisado para verificar a potencialidade do Bi como padrão interno para Pb foi a comparação entre os sinais transientes, mais precisamente o tempo de aparecimento do transiente, o tempo de restauração à

linha base e perfil do sinal. Sinais transientes com perfis semelhantes sugerem que os elementos que os geraram apresentam mecanismos similares. Assim, é possível avaliar preliminarmente, quando se tratam de medidas simultâneas, a semelhança dos mecanismos de atomização e modificação química do analito e do padrão interno.

A similaridade dos aspectos citados acima para analito e padrão interno pode indicar que a padronização interna está atuando satisfatoriamente na correção de interferências, pois quando precursores atômicos do analito e do padrão interno são semelhantes, há grandes chances de correção das interferências, uma vez que analito e padrão interno tendem a serem afetados pela matriz de maneira similar. Os sinais transientes de absorção atômica de Pb e Bi em amostra de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 estão ilustrados na Figura 7.

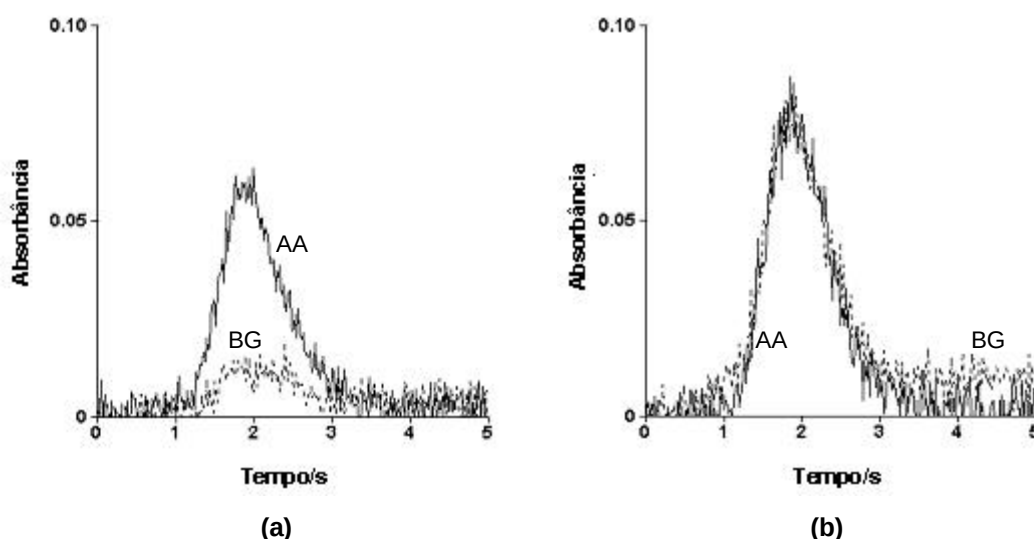


Figura 7. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Os sinais transientes de absorbância de Pb e Bi são semelhantes quanto aos seus perfis, tempo de aparecimento do sinal (cerca de 1s) e restauração à linha base (cerca de 4s). Os mecanismos de atomização e modificação química para Pb e Bi são similares, reforçando a tese de que Bi pode ser um eficiente padrão interno para Pb em vinagre. O valor de absorção de fundo e a massa característica encontrados na presença deste modificador foram 0,0078 e 46 pg, respectivamente.

5.2.1.2 Modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

O comportamento térmico de Pb e Bi foi também avaliado na presença do modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, o qual é recomendado pelo manual do aparelho como modificador apropriado para determinação de Pb. Ndung'u *et. al.*²⁷ utilizaram esse modificador na determinação de Pb em vinagre digerido por GF AAS e obtiveram bons resultados. As curvas de temperatura de pirólise e de atomização contendo o comportamento térmico de Pb e Bi em amostra de vinagre diluída em 0,2% (v/v) HNO_3 em presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ estão representadas na Figura 8.

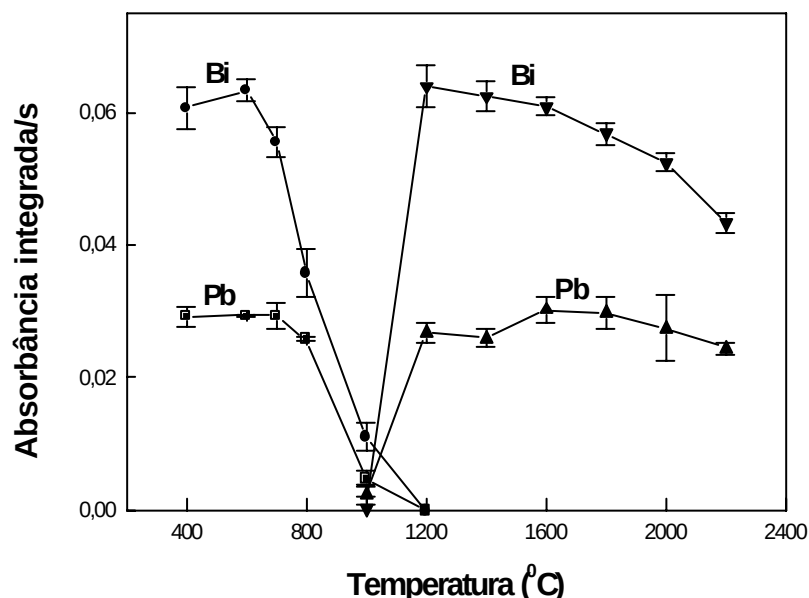


Figura 8. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 empregando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 650°C para obtenção das curvas de atomização.

Analisando a Figura 8 é possível constatar que os comportamentos térmicos de Pb e Bi são similares. Os dois elementos estabilizados termicamente até 650°C, uma temperatura de pirólise considerada baixa para eliminar a quantidade de matriz do vinagre, o que pode favorecer a ocorrência de interferência. A temperatura de atomização que forneceu a melhor absorção atômica transiente foi de 1600°C. Os

sinais transientes de absorção atômica de Pb e Bi e de fundo em amostra de vinagre diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 estão ilustrados na Figura 9.

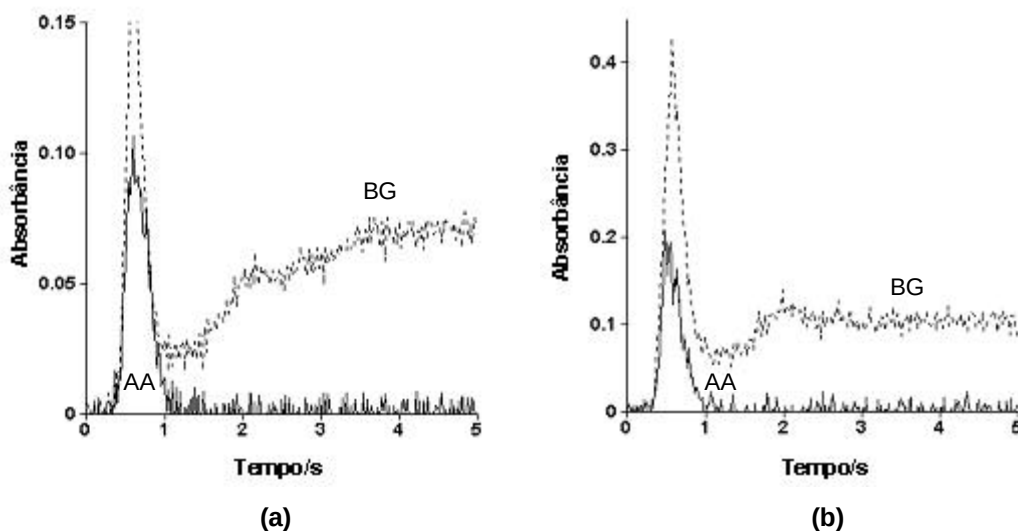


Figura 9. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Avaliando os sinais transientes de Pb e Bi é possível observar que seus perfis são semelhantes, tanto o tempo de aparecimento do sinal como o de retorno à linha base, sugerindo que os mecanismos de atomização e modificação química são semelhantes. Aqui novamente se conclui, embora não definitivamente, que Bi pode ser um eficiente padrão interno para a determinação de Pb em vinagres. O valor de absorção de fundo e a massa característica encontrados na presença deste modificador foram 0,0114 e 74 pg, respectivamente. É possível observar neste caso, que o BG aumentou e a sensibilidade diminuiu consideravelmente quando comparados com os valores encontrados na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

5.2.1.3 Modificador misto: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$

Esse modificador foi escolhido porque as espécies químicas que o compõem atuam como modificador tanto para Bi - $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, como para Pb - $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ⁷⁹. A mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ é a indicada para Bi, já foi utilizada em vários trabalhos para Pb, e é a mistura sugerida em medidas multielementares. Mas esta generalização nem sempre é observada. Assim, optou-

se por avaliar a possibilidade de aplicar a mistura $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ de modo a atender aos dois analitos.

As curvas de temperatura de pirólise para Pb e Bi em amostras de vinagre diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 , em presença do modificador misto $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ estão ilustradas na Figura 10.

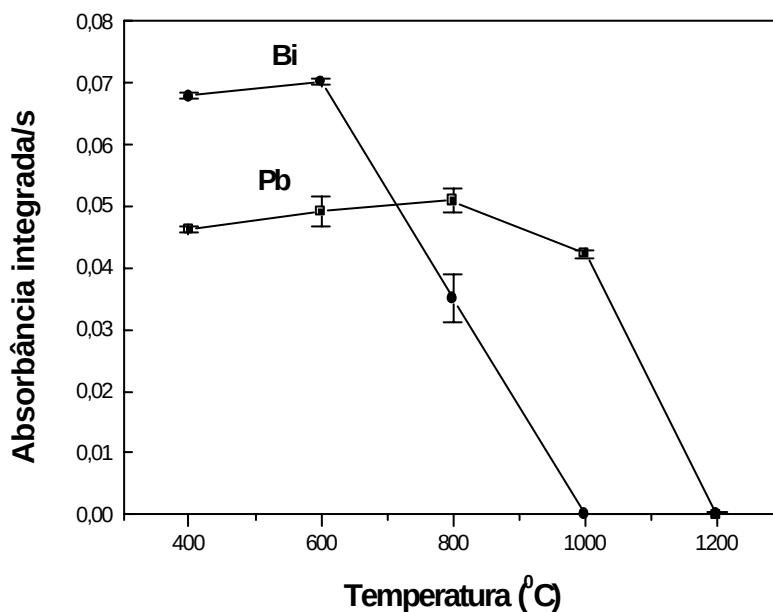


Figura 10. Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 empregando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.

Observando-se a Figura 10, é possível constatar que os comportamentos térmicos de Pb e Bi não são semelhantes: Bi é estabilizado até cerca de 600°C, enquanto Pb suporta até 800°C. Esta diferença de comportamento pode estar atribuída às diferentes formas dos precursores atômicos de Bi e Pb, levando a mecanismos de atomização diferentes, apesar de os sinais transientes serem bem parecidos (Figura 11).

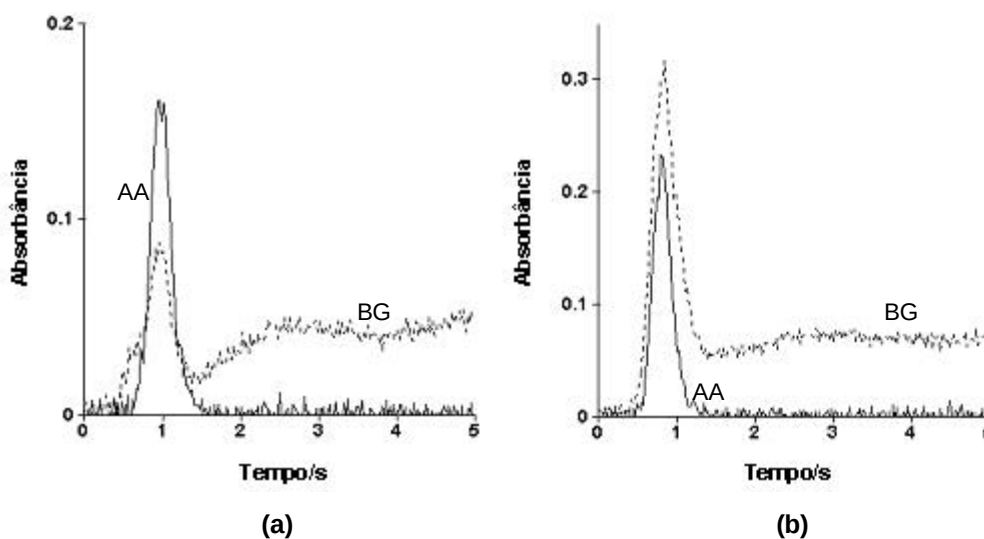


Figura 11. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

O elemento mais volátil de um grupo sempre limita a temperatura de pirólise em determinações simultâneas multielementares. Como nesse caso o Bi limitou a pirólise em 600°C , uma temperatura considerada baixa para os propósitos analíticos deste trabalho, decidiu-se por não dedicar estudos mais aprofundados sobre as curvas de temperatura de atomização desses dois elementos. O valor de absorção de fundo e a massa característica encontrados na presença deste modificador foram 0,0350 e 45 pg, respectivamente.

5.2.2 Modificador permanente: Ru

Como comentado anteriormente o emprego de modificadores químicos permanentes apresenta uma série de vantagens sobre os convencionais⁹⁹. Os PGM, principalmente Pt, Rh, Ru e Ir, tem sido utilizados sozinhos ou em mistura para a determinação de alguns elementos voláteis, tais como, As, Bi, Se, Hg, Cd, Ge, Sn, Sb e Pb¹⁰⁰. Neste caso, aliou-se a vantagens que o modificador permanente Ru oferece com sua capacidade de estabilizar termicamente a altas temperaturas elementos voláteis como Pb e Bi.

As estabilidades térmicas de Pb e Bi em vinagre diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 em presença de Ru estão apresentadas como curvas de temperatura de pirólise na Figura 12.

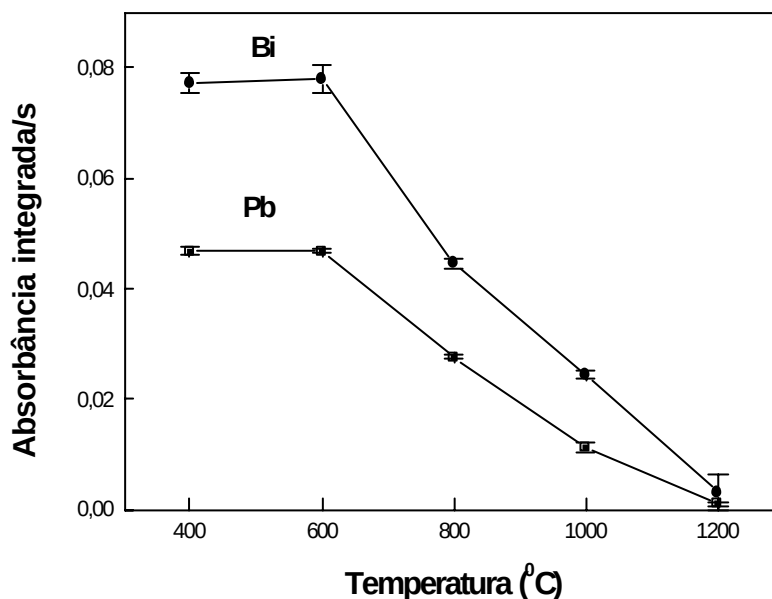


Figura 12. Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em vinagre Agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO₃ empregando Ru como modificador permanente. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.

Na presença deste modificador os comportamentos térmicos de Pb e Bi são semelhantes e estabilizados somente até 600°C, uma temperatura considerada baixa para a eliminação eficiente da matéria orgânica presente no vinagre. Assim sendo, optou-se também por não avaliar a temperatura de atomização desses elementos, mesmo que ambos possam ser utilizados na padronização interna. Os sinais transientes de absorção atômica para Pb e Bi e os de fundo, obtidos em amostra de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO₃ na presença do modificador permanente Ru estão ilustrados na Figura 13. Os sinais são semelhantes quanto aos seus perfis e apresentam concordância temporal, sendo possível utilizar Bi para corrigir efeitos de matriz.

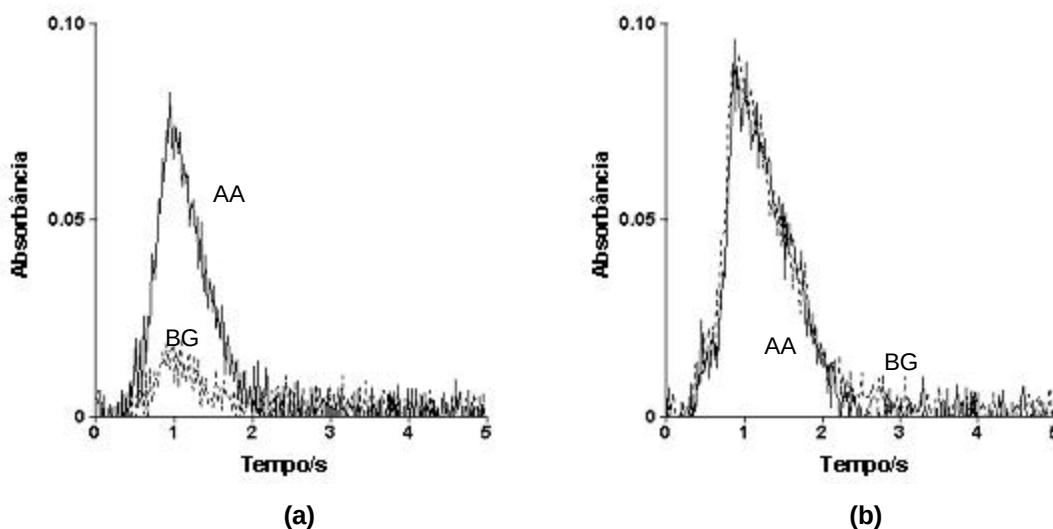


Figura 13. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença de Ru como modificador. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Mesmo havendo similaridade entre os comportamentos térmicos de Pb e Bi e seus respectivos sinais transientes, a temperatura de pirólise encontrada é muito baixa o que pode comprometer a remoção da matriz, principalmente devido à amostra ser apenas diluída e analisada diretamente sem qualquer pré-tratamento. A padronização interna poderia ser eficiente na redução dos possíveis efeitos de matriz, porém, estudos posteriores não foram feitos, devido a baixa temperatura de pirólise. A massa característica e o BG encontrados para Pb foram 47 pg e 0,0112, respectivamente.

5.2.3 Modificadores permanentes com co-injeção

5.2.3.1 Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

Estudos preliminares revelaram que Ru estabilizou termicamente Pb e Bi até 600°C ; no caso da mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, a pirólise ótima foi de 1000°C . Embora o Ru sozinho seja inadequado para medir simultaneamente Pb e Bi, o seu emprego associado à co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ pode aliar os benefícios do modificador permanente com a estabilidade térmica do convencional. O comportamento térmico de Pb e Bi em amostra de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO_3 obtido em presença de Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, pode ser observado pelas curvas de temperatura de pirólise e atomização na Figura 14.

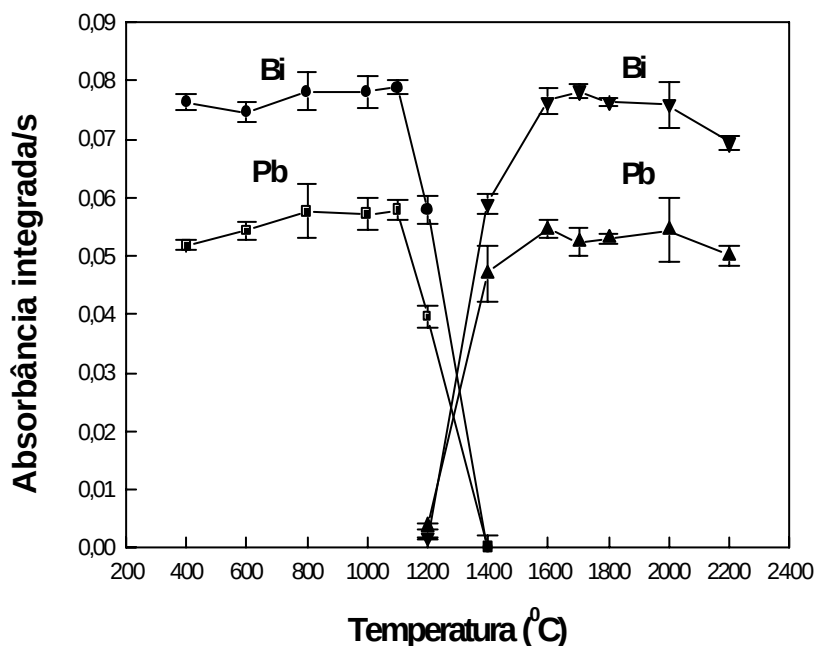


Figura 14. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise. Temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de temperatura de atomização.

Observando a Figura 14, é possível constatar a semelhança entre os comportamentos térmicos de Pb e Bi na presença do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Estes elementos foram estabilizados termicamente até 1000°C e foram atomizados a temperatura de 2000°C. Além da semelhança entre os sinais transientes de absorbância tanto nos seus perfis, quanto na concordância temporal (Figura 15).

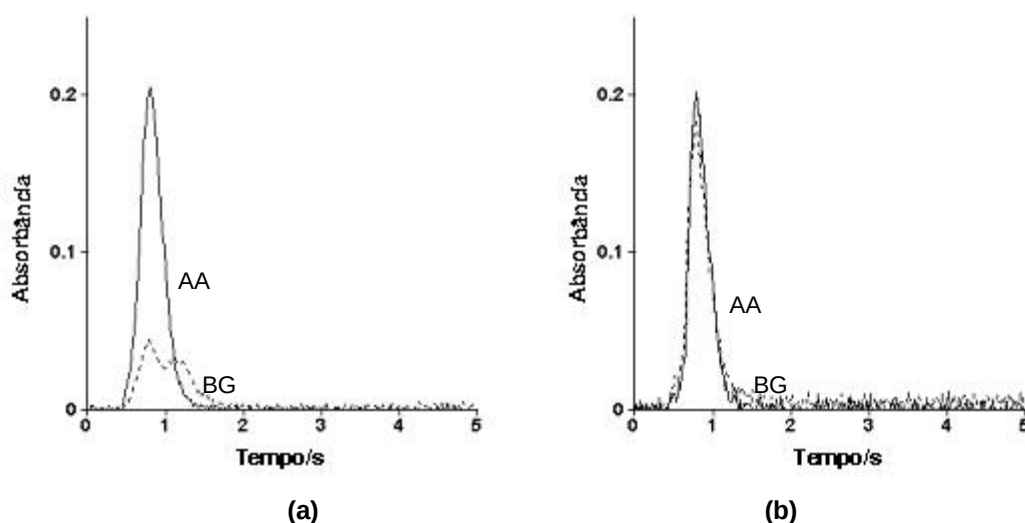


Figura 15. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

A semelhança existente entre Pb e Bi, nos aspectos anteriormente citados, indica a possibilidade da padronização interna atuar na correção de interferências.

O modificador permanente Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foi o que possibilitou maior estabilidade térmica para Pb e Bi, em relação aos modificadores anteriormente comentados. Além disso, este modificador pode aumentar o tempo de vida útil do tubo de grafite, reduzindo os custos de análise. A massa característica e o BG encontrados foram 40 pg e 0,0286, respectivamente.

5.2.3.2 Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

Como descrito anteriormente para o modificador permanente Ru, os comportamentos térmicos de Pb e Bi em amostra de vinagre diluída em 0,2% (v/v) HNO_3 para o modificador Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, estudados somente por meio das curvas de pirólise, estão ilustrados na Figura 16.

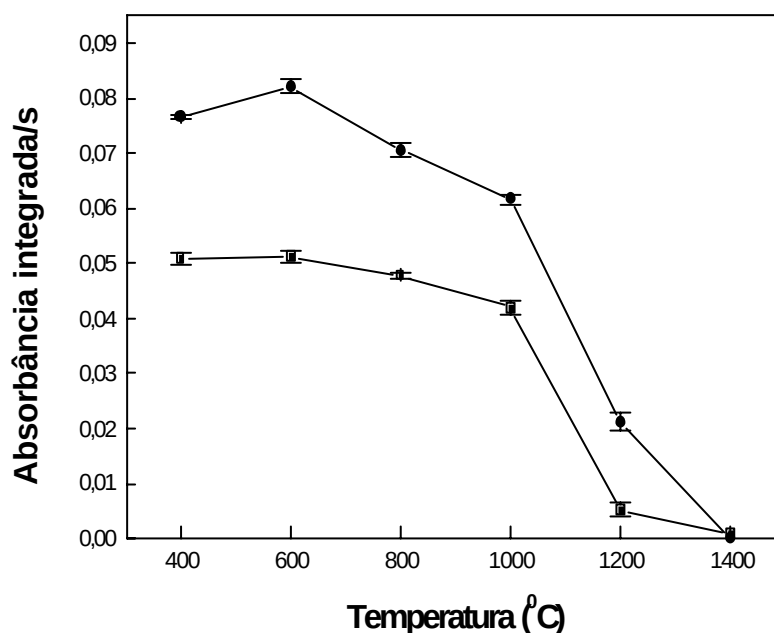


Figura 16. Curvas de temperatura de pirólise referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise.

Na presença deste modificador observou-se uma baixa temperatura de pirólise para Pb e Bi, conferindo estabilidade térmica para estes elementos até 600°C. Como nesta temperatura provavelmente a matéria orgânica presente no vinagre não pode ser totalmente eliminada, não foram feitos experimentos com as curvas de temperatura de atomização.

A semelhança entre os comportamentos térmicos de Pb e Bi e também entre os sinais transientes de absorbância é observada. Porém, como a temperatura de pirólise é baixa, esse modificador apresenta baixo potencial para ser empregado na determinação direta de Pb em vinagre.

Os sinais transientes de absorção atômica de Pb e Bi e de fundo obtidos em amostra de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) HNO_3 em presença do modificador permanente Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ estão ilustrados na Figura 17.

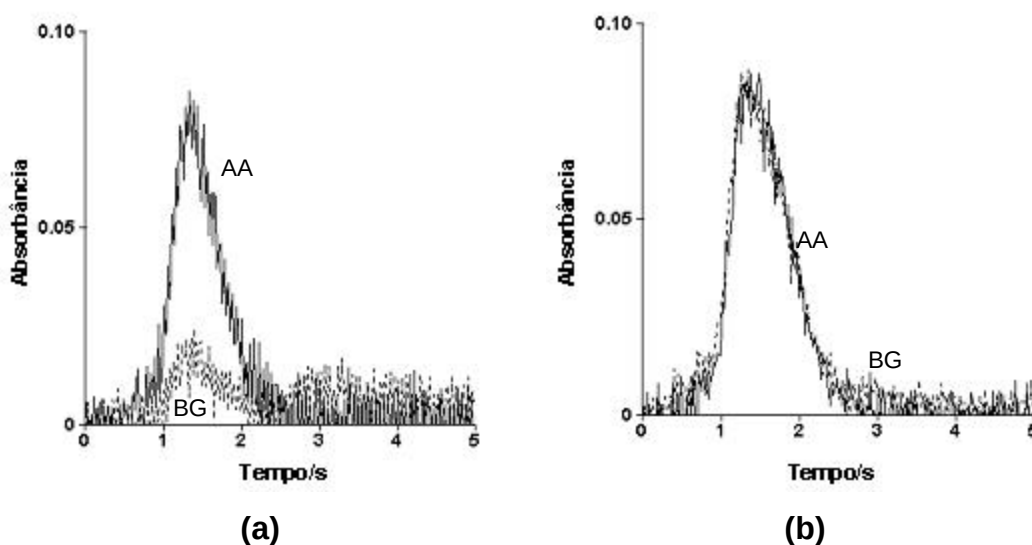


Figura 17. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente Ru com co-injeção de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Novamente, observa-se concordância temporal entre os sinais transientes, o que sugere similaridade entre os mecanismos de atomização e modificação química. Mas como citado anteriormente, isto não é suficiente para uma satisfatória aplicação da padronização interna. A massa característica encontrada para Pb neste modificador foi 43 e o BG 0,0104.

5.2.3.3 W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

A formação de depósitos de carbetos (ou oxicarbets) metálicos sobre a plataforma do tubo de grafite, ou diretamente sobre a parede do tubo, é uma estratégia de modificação interessante para prolongar a vida útil do tubo de grafite quando se trabalha com solventes ou matrizes agressivas. Além de atuar como revestimento do tubo e/ou como modificador, esses carbetos podem promover a decomposição da matriz por meio de efeitos catalíticos⁹¹. Foi nesse contexto que decidiu-se investigar o efeito da combinação de W com $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ na absorbância de Pb em meio de vinagre. As curvas de temperatura de pirólise e de atomização, ilustradas na Figura 18, sugerem uma boa semelhança no comportamento térmico de Pb e Bi em amostras de vinagre diluído em meio 0,2% (v/v) HNO_3 empregando o modificador permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

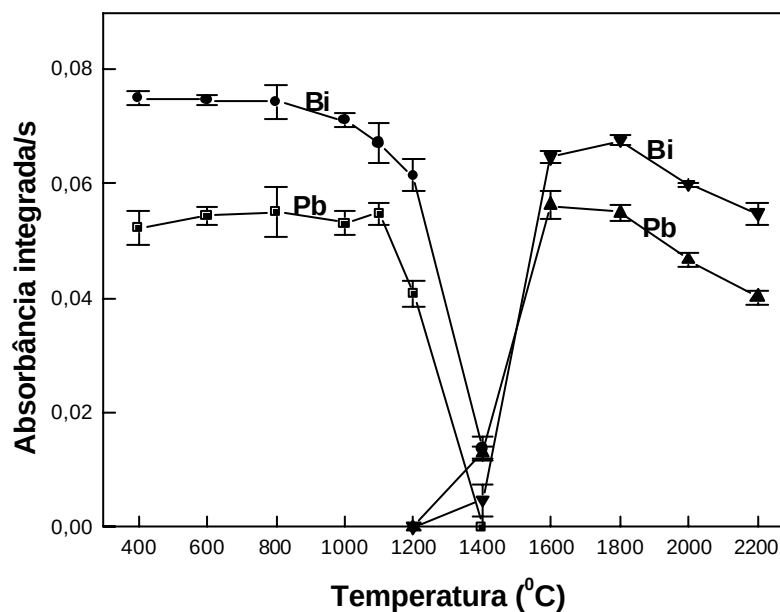


Figura 18. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização referentes a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de vinagre agrin de vinho tinto diluído em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 empregando o modificador permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Temperatura de atomização fixada em 1700°C para obtenção das curvas de pirólise e temperatura de pirólise fixada em 1000°C para obtenção das curvas de temperatura de atomização.

Os elementos Pb e Bi foram estabilizados termicamente até 1000°C e a melhor temperatura de atomização para ambos foi 1800°C. Os sinais transientes de absorção atômica de Pb e Bi e de fundo obtidos em amostra de vinagre diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 estão ilustrados na Figura 19.

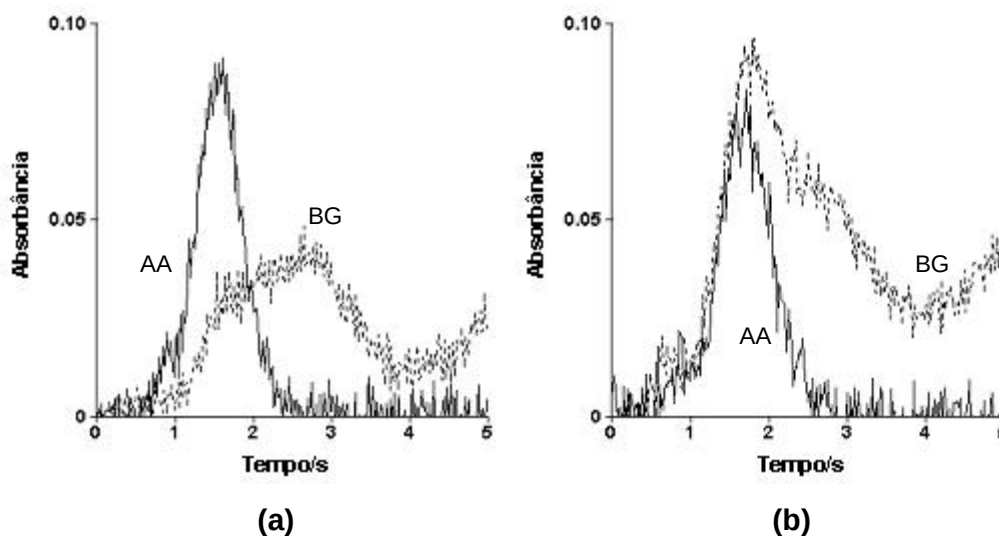


Figura 19. Sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes para 500 pg Pb (a) e 1000 pg Bi (b) em vinagre agrin de vinho tinto diluído em 0,2% (v/v) HNO_3 obtidos em presença do modificador químico permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

A potencialidade do Bi como padrão interno para Pb neste modificador pode ser avaliada pela semelhança nos seguintes aspectos: comportamento térmico de Pb e Bi e sinais transientes. Neste caso, esta condição é atendida, e possivelmente haverá correções de interferências de matriz, pois Pb e Bi devem ser afetados pela matriz de forma similar. A massa característica e o BG encontrados foram 40 e 0,0119, respectivamente

5.3 Gráficos de Correlação

Um parâmetro utilizado para avaliar preliminarmente a eficiência da padronização interna é o gráfico de correlação. O gráfico de correlação pode fornecer informações importantes que permitem a comparação do desempenho de vários elementos como possíveis padrões internos, com a avaliação quantitativa dos parâmetros da regressão linear. A aplicação dos gráficos de correlação neste trabalho visa avaliar a potencialidade do Bi como padrão interno para o Pb frente à diferentes modificadores. O coeficiente de correlação (r) expressa o grau de similaridade entre as variações dos sinais do analito e do padrão interno, sendo $r = 1$ a condição ideal para a correlação entre os dados⁴⁵. Juntamente com o gráfico de correlação foi construída uma reta que obedece a equação $y = x$ (reta identidade) na

qual os valores da abscissa são exatamente iguais aos valores da ordenada, ou seja, correlação perfeita (coeficiente de correlação = 1).

A eficiência de ação de um elemento como padrão interno para um determinado analito em um modificador químico pode ser prevista preliminarmente por aspectos teóricos, por meio dos parâmetros físico-químicos e mecanismos de atomização, e sequencialmente por aspectos práticos ou experimentais, com estudos do comportamento térmico, construção de gráficos de correlação e influência da matriz na absorbância. As principais características analíticas obtidas para todos os modificadores estudados até o momento, tais como a temperatura de pirólise e de atomização, as massas características, absorção de fundo (background) e desvios padrão relativos estão resumidas na Tabela 9.

Com a avaliação dos comportamentos térmicos de Pb e Bi em amostras de vinagre diluído em presença de diferentes modificadores químicos, foi possível selecionar três modificadores químicos, pois estabilizaram similarmente o Pb e o Bi a temperaturas mais altas, e ainda proporcionaram sinais transientes uniformes e semelhantes. Levando-se em consideração esses aspectos, os gráficos de correlação foram construídos e estudados para os modificadores químicos mais promissores, no caso, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Além disso, estes modificadores forneceram melhores sensibilidades, ou seja, menores valores de massa característica (m_0) e as absorbâncias de fundo (BG) não variaram significativamente nos diferentes modificadores, sendo as mais altas correspondentes ao modificador combinado $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Apesar do instrumento possuir corretor de fundo eficiente, por efeito Zeeman, possibilitando que as medidas sejam feitas com o mínimo de interferências, a eficiência na degradação da matriz pode variar de acordo com o modificador empregado. Por isso há a necessidade de se buscar a mais alta temperatura de pirólise possível. Os valores de desvio padrão relativo foram aceitáveis para todos os modificadores e desta forma, não influenciaram de maneira decisiva na escolha dos modificadores mais promissores.

Tabela 9. Principais características analíticas.

Modificador	T_p (°C)	T_a (°C)	m_o(pg)	B_g (A)	r.s.d. (%)
Pd+Mg	1000	1800	Pb - 46	Pb - 0,0078	Pb - 5,2
			Bi - 56	Bi - 0,0718	Bi - 2,8
NH ₄ H ₂ PO ₄ +Mg	650	1700	Pb - 74	Pb - 0,0114	Pb - 1,6
			Bi - 84	Bi - 0,0705	Bi - 5,4
Ru	600	1700	Pb - 47	Pb - 0,0112	Pb - 0,8
			Bi - 56	Bi - 0,0775	Bi - 3,1
Ru+Pd+Mg	1000	2000	Pb - 40	Pb - 0,0286	Pb - 3,8
			Bi - 58	Bi - 0,0927	Bi - 5,0
Ru+NH ₄ H ₂ PO ₄ +Mg	600	1700	Pb - 43	Pb - 0,0104	Pb - 2,0
			Bi - 53	Bi - 0,0762	Bi - 1,5
W+Pd+Mg	1000	1800	Pb - 40	Pb - 0,0119	Pb - 1,9
			Bi - 65	Bi - 0,0537	Bi - 1,2
Pd+Mg +NH ₄ H ₂ PO ₄	600	1700	Pb - 45	Pb - 0,0350	Pb - 4,4
			Bi - 63	Bi - 0,1030	Bi - 0,8

5.3.1 Modificador Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂

O gráfico de correlação dos sinais normalizados de Pb e de Bi na presença do modificador químico Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ está ilustrado na Figura 20. O tratamento dos dados obtidos levou a obtenção da reta cuja equação que descreve o comportamento dos resultados experimentais é $A_{Bi} = (0,8207 \pm 0,0463) + (0,3581 \pm 0,0392) A_{Pb}$, com coeficiente de correlação (r) igual a $0,9114 \pm 0,1589$.

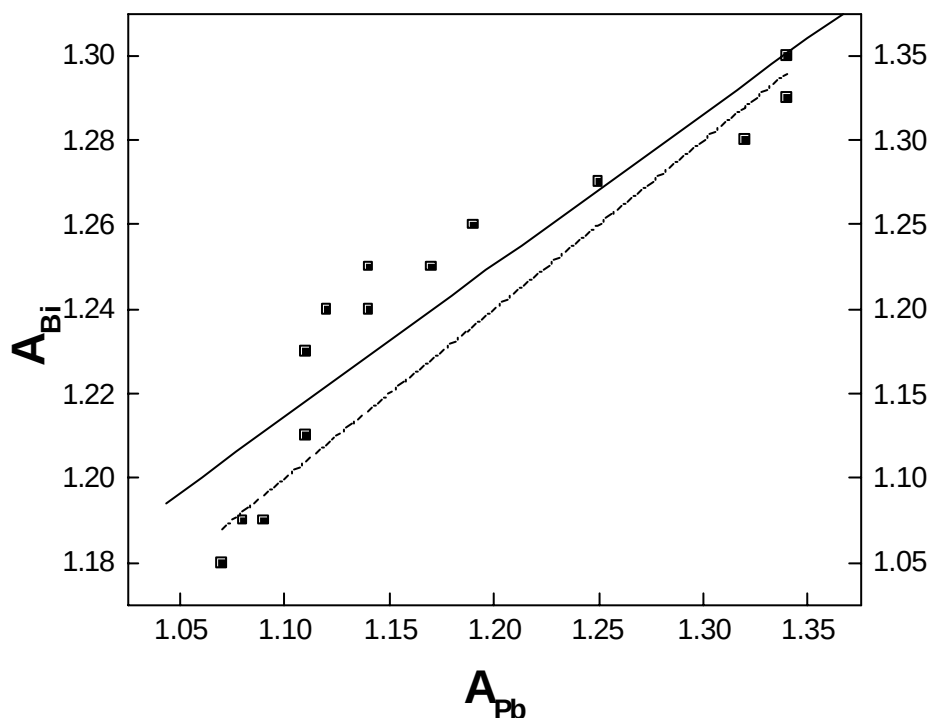


Figura 20. Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico $Pd(NO_3)_2 + Mg(NO_3)_2$. Linha contínua e tracejada demonstram a situação experimental e ideal, respectivamente. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

O coeficiente de correlação (r) avalia estatisticamente a existência de uma relação linear entre as duas variáveis (x e y) em questão e seu valor está restrito ao intervalo de -1 a $+1$. Quando $r = +1$, ocorre a correlação positiva perfeita entre os valores das duas variáveis (x e y); r próximo de $+1$, há forte correlação positiva entre os valores das duas variáveis; $r = 0$, não existe correlação nenhuma entre as variáveis; r próximo de -1 , existe uma forte correlação negativa apresentando que a maioria dos valores está próxima de uma reta com coeficiente angular negativo; $r = -1$, ocorre correlação negativa perfeita entre os valores das duas variáveis (x e y) com coeficiente angular negativo. A partir do coeficiente de correlação fornecido pela regressão linear, é possível verificar que existe uma boa correlação para os sinais de absorvância de Pb e Bi ($r = 0,9114$).

5.3.2 Modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

O gráfico de correlação das absorvâncias normalizadas de Pb e Bi na presença do modificador permanente Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ está ilustrado na Figura 21.

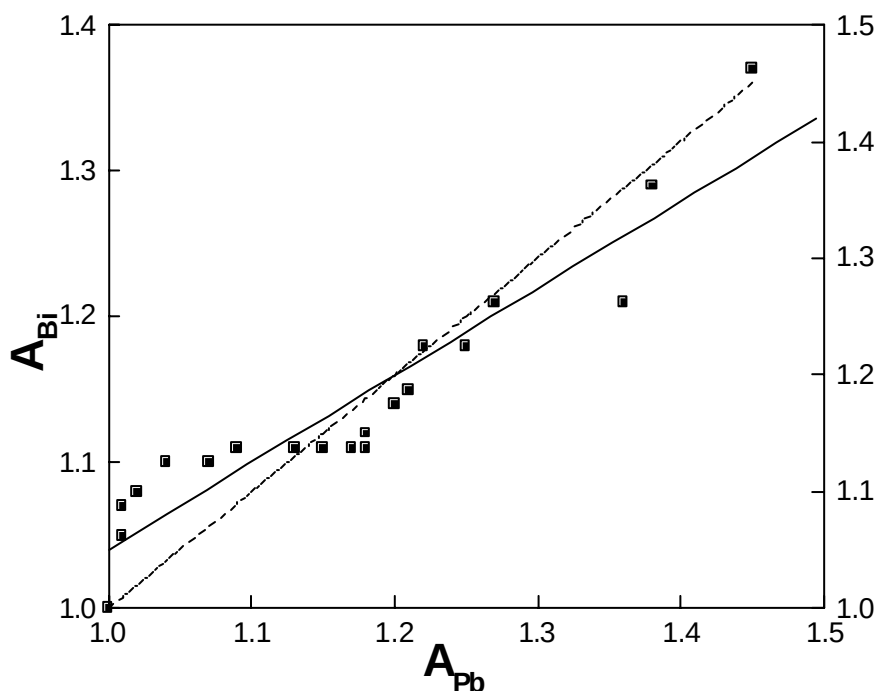


Figura 21. Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Linha contínua e tracejada demonstram a situação experimental e ideal, respectivamente. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Os resultados experimentais podem ser descritos pela equação da reta $A_{\text{Bi}} = (0,4435 \pm 0,0560) + (0,5968 \pm 0,0481)A_{\text{Pb}}$, com coeficiente de correlação (r) igual a $0,9381 \pm 0,0279$. A análise dos coeficientes de correlação indica que existe uma maior correlação para os sinais de Pb e Bi na presença deste modificador do que para o modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

5.3.3 Modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

O gráfico de correlação do par Pb - Bi obtido na presença do modificador químico permanente W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ está ilustrado na Figura 22.

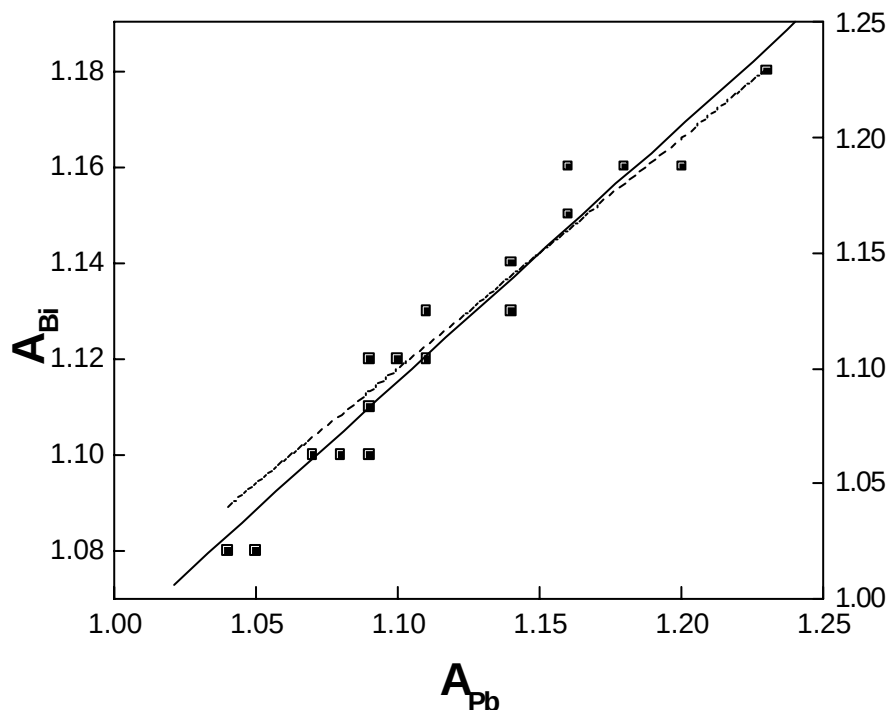


Figura 22. Gráfico de correlação referente a 500 pg Pb e 1000 pg Bi em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e vinagre agrin de vinho tinto diluído empregando o modificador químico W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Linha contínua e tracejada demonstram a situação experimental e ideal, respectivamente. Programa de aquecimento: o mesmo da Tabela 6.

Os resultados experimentais podem ser descritos pela equação $A_{\text{Bi}} = (0,5272 \pm 0,0286) + (0,5346 \pm 0,0255)A_{\text{Pb}}$, a qual apresenta coeficiente de correlação (r) igual a $0,9791 \pm 0,0065$. A análise dos coeficientes de correlação obtidos pela regressão linear indica que existe uma forte correlação para o par Pb - Bi na presença deste modificador, maior que para os modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_3$ e Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_3$.

Os coeficientes de correlação (r) contidos na tabela 10 referem-se apenas aos modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e

W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, que se destacaram no estudo associado ao comportamento térmico.

Tabela 10. Coeficientes de correlação (r) para os modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

Modificador	Coeficiente de correlação (r)
$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$0,9114 \pm 0,1589$
$\text{Ru} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$0,9381 \pm 0,0279$
$\text{W} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$0,9791 \pm 0,0065$

Com o intuito de avaliar estatisticamente se os valores do coeficiente de correlação são significativos, aplicou-se o teste t^{101} . Esse teste (33) foi aplicado neste caso para verificar uma entre duas hipóteses: de que os coeficientes de correlação são iguais a zero (H_0) ou se são diferentes de zero (H_1). Se a hipótese H_1 for verdadeira, está demonstrada a existência de correlação ou dependência entre as variáveis.

$$t = r \sqrt{\frac{(n-2)}{(1-r^2)}} \quad (33)$$

Onde: r = coeficiente de correlação;

n = número de replicatas.

A região crítica para $P = 0,05$ e 20 graus de liberdade, foi $t_{\text{crítico}} = 1,73$. Acima deste valor crítico, rejeita-se a hipótese de que o coeficiente de correlação entre as duas variáveis é zero (H_0), indicando que existe correlação entre as variáveis. Os valores de t calculados para os três modificadores foram: $t_{\text{calculado}} = 9,65$ para $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_3$; $t_{\text{calculado}} = 11,81$ para Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_3$; $t_{\text{calculado}} = 21,00$ para W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_3$. A hipótese H_0 pode ser rejeitada, concluindo-se que existe correlação para os três modificadores. Apesar de o teste t ter apresentado correlação entre as variáveis, ele é apenas informativo qualitativo. Os resultados obtidos com os gráficos de

correlação fornecem apenas uma tendência e não são conclusivos. Nesse sentido, o estudo dos gráficos de correlação sugeriu fortemente que os melhores modificadores químicos que permitem o emprego de Bi como padrão interno na determinação de Pb em vinagre são os seguintes: W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 > \text{Ru}$ com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 > \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. É importante ressaltar que à medida que o valor de r aumenta do $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ para o W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, os erros associados a esses valores diminui, o que reforça a tese de que o melhor modificador para esse fim analítico era W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Essa seqüência foi definida levando-se em conta o coeficiente de correlação linear, temperatura de pirólise, massa característica, sinais transientes, absorção de fundo e r.s.d. Desses parâmetros, o que parece apresentar a maior influência é o coeficiente de correlação.

5.4 Influência da matriz na absorbância

A composição química do vinagre é bastante complexa e varia em função do processamento e qualidade da matéria-prima utilizada, como comentado anteriormente. A análise direta de amostra de vinagre por GF AAS pode ser passível a interferências às quais prejudicam a seletividade, a sensibilidade, a precisão ou a exatidão. A qualidade dos resultados também pode ser diminuída em função dos erros sistemáticos e aleatórios e o desempenho analítico prejudicado. Além disso, a matriz da amostra pode acelerar o desgaste do tubo de grafite, aumentando os custos analíticos. A padronização interna constitui-se em alternativa simples para a correção de efeitos de matriz^{44,49}, sendo desnecessário em algumas situações a calibração pelo método das adições de padrão ou da compatibilização de matriz, pois ela pode reduzir os erros sistemáticos e/ou aleatórios melhorando a precisão e exatidão das medidas.

O modificador que revelou ser o mais eficiente para ser aplicado na determinação direta de Pb em vinagre empregando padronização interna foi o W com co-injeção da mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Desta forma, os estudos relacionados com a influência da variação da matriz de vinagre na absorbância de chumbo foram inicialmente feitos em presença desse modificador (Figura 23). Análise desta figura permite comparar as correlações existentes nas absorbâncias

do analito ($25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb), do padrão interno ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi) e na razão das absorvâncias do Pb pelo Bi (Pb/Bi). Estas últimas sugerem que as interferências de matriz não são minimizadas com a aplicação da padronização interna, caso contrário à razão das absorvâncias seria praticamente independente da composição da matriz da amostra.

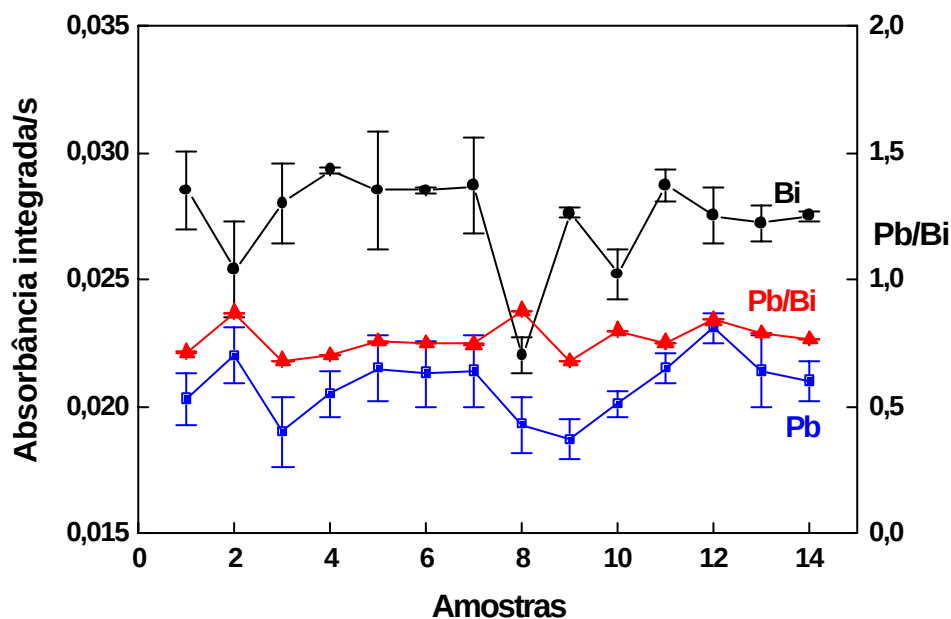


Figura 23. Influência da matriz de vinagre nas absorvâncias de Pb, de Bi e na razão entre essas absorvâncias (Pb/Bi) empregando diferentes amostras de vinagre (1-14) em presença do modificador químico W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Absorvâncias referem-se a amostras de vinagre (1 + 1, v/v) em meio 0,2% (v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi.

Estudos complementares voltados à avaliação do desempenho do modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ na determinação direta de Pb em vinagre empregando Bi como padrão interno comprovaram a inviabilidade da padronização interna quando esse modificador é usado. Os estudos envolvendo os efeitos múltiplos de matriz foram feitos por meio da construção de gráficos de curvas analíticas em meio de vinagre de vinho tinto, vinagre de vinho branco e ácido nítrico diluído, nos quais a ordenada é a razão absorvância de Pb/absorvância de Bi (Figura 24). Se a padronização interna fosse eficiente, as três curvas deveriam apresentar inclinações bem próximas. Análise da Figura 24 revela que há diferença significativa entre as calibrações obtidas com a padronização interna nos três meios, pois as inclinações das curvas analíticas apresentaram diferentes coeficientes

angulares (b): 0,0939 (ácido nítrico), 0,0926 (vinagre de vinho branco) e 0,0819 (vinagre de vinho tinto). Como os efeitos de matriz não foram corrigidos esse modificador não foi viável para o emprego de Bi como padrão interno na determinação de Pb em vinagre.

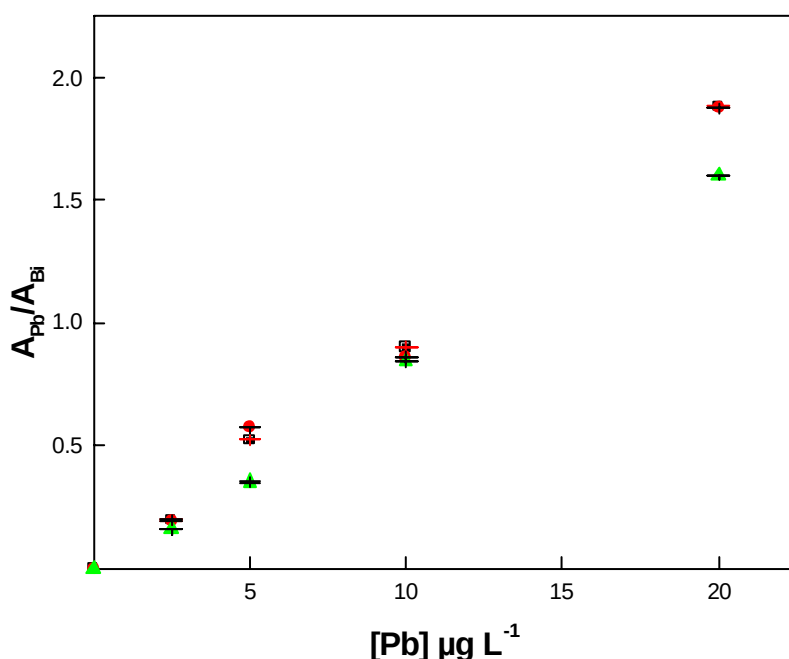


Figura 24. Curvas analíticas para Pb obtidas com a aplicação da padronização interna em meio de 0,2% (v/v) HNO₃ (■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6.

Por outro lado, a determinação direta de Pb em vinagre pode ser feita com o modificador W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ sem o uso da padronização interna desde que se conheça a influência da matriz da amostra na absorvância do analito. Assim, fica mais fácil escolher o método mais apropriado de calibração do sistema, se calibração externa ou calibração interna³⁵⁻³⁷. Esse estudo envolve normalmente a avaliação da influência da composição química na sensibilidade de curvas analíticas levantadas em diferentes meios. No presente estudo, foram preparadas soluções analíticas de referência em três meios diferentes: a) ácido nítrico diluído; b) vinagre de vinho branco e c) vinagre de vinho tinto.

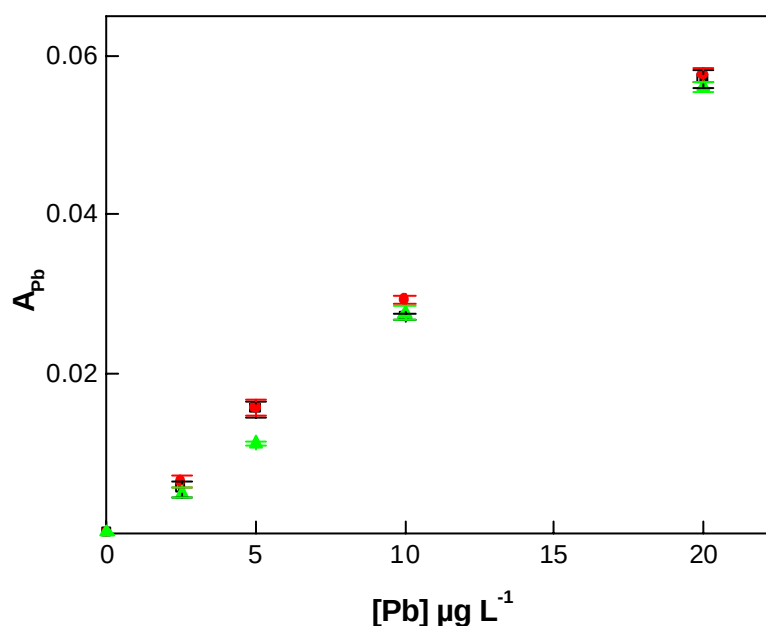


Figura 25. Curvas analíticas para Pb obtidas em meio de 0,2% HNO₃ (-■-), vinagre agrin de vinho branco (-●-) e vinagre agrin de vinho tinto (-▲-) empregando W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6.

Analisando a Figura 25, a partir das melhores retas para cada meio, é possível constatar que não existe uma diferença significativa entre calibrar o sistema com meio 0,2% (v/v) HNO₃ ou vinagre diluído, uma vez que as inclinações das curvas analíticas apresentaram coeficientes angulares iguais: 0,0029 (ácido nítrico), 0,0029 (vinagre de vinho branco) e 0,0029 (vinagre de vinho tinto). Assim a calibração via soluções analíticas preparadas em meio aquoso (0,2% v/v HNO₃) é possível e por ser a mais simples foi adotada para este modificador. A eficiência do modificador W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ na minimização dos efeitos matriz permitiu determinar Pb diretamente.

Os resultados obtidos para W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ revelam que a padronização interna é altamente dependente da natureza do modificador químico empregado. Decidiu-se, então avaliar o potencial do modificador químico Ru com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ na determinação de Pb em vinagre empregando Bi como padrão interno. Os estudos relacionados com a influência da variação da matriz de vinagre na absorbância de chumbo foram feitos em presença desse modificador (Figura 26). Esta figura permite comparar as oscilações existentes nas absorbâncias do analito (25 µg L⁻¹ Pb), do padrão interno

($50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi) e na razão das absorvâncias do Pb pelo Bi (Pb/Bi). Estas últimas sugerem que as interferências de matriz são minimizadas com a aplicação da padronização interna, pois, a flutuação da razão das absorvâncias é mínima ao longo do tipo de amostra. Chumbo e Bismuto sofrem oscilações semelhantes, provavelmente resultantes de comportamentos térmicos semelhantes dos dois elementos no tubo de grafite modificado.

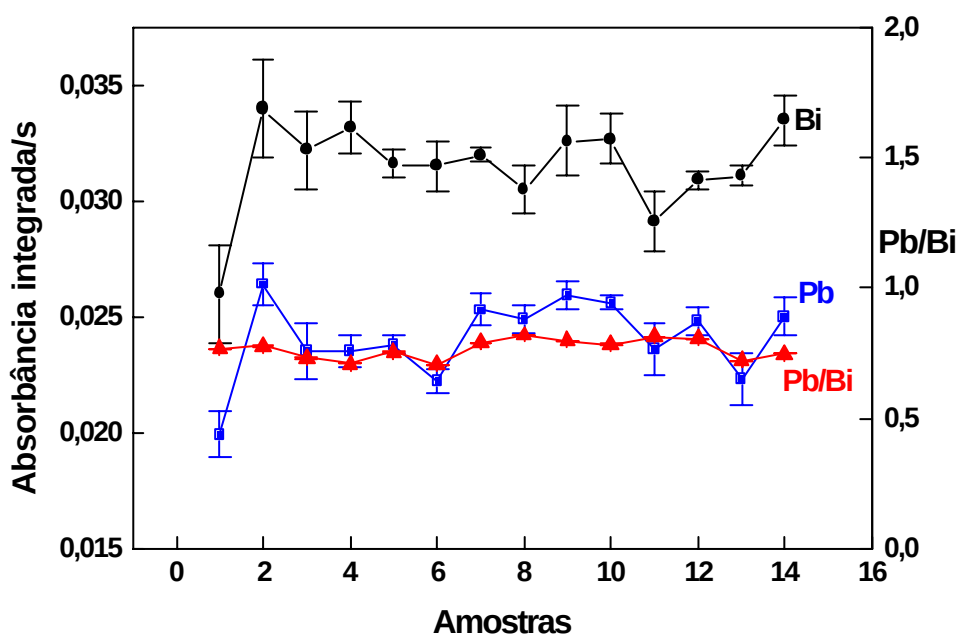


Figura 26. Influência da matriz de vinagre nas absorvâncias de Pb, de Bi e na razão entre essas absorvâncias (Pb/Bi) empregando diferentes amostras de vinagre (1-14) em presença do modificador químico Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Absorvâncias referem-se a amostras de vinagre (1 + 1) (v/v) em meio 0,2% (v/v) contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi.

Estudos complementares voltados à avaliação do desempenho do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ na determinação direta de Pb em vinagre empregando Bi como padrão interno, também foram feitos e comprovaram a viabilidade da padronização interna quando esse modificador é usado. Os estudos envolvendo os efeitos múltiplos de matriz foram conduzidos por meio de curvas analíticas em meio de vinagre de vinho tinto, vinagre de vinho branco e ácido nítrico diluído, nos quais a ordenada é a razão absorvância de Pb/absorvância de Bi (Figura 27). Análise desta figura revela que não há diferença significativa entre calibrar o sistema com a padronização interna nos três meios, pois as inclinações das curvas analíticas são bem próximas, coeficientes angulares: 0,0536 (ácido

nítrico), 0,0536 (vinagre de vinho branco) e 0,0536 (vinagre de vinho tinto). Os efeitos de matriz foram corrigidos, como revela a figura abaixo, e neste caso a padronização interna foi viável.

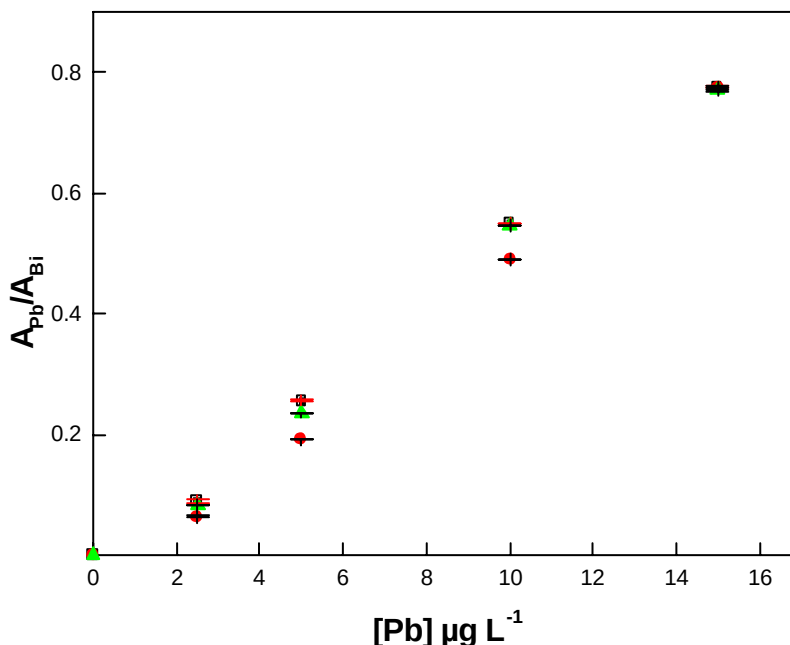


Figura 27. Curvas analíticas para Pb obtidas com a aplicação da padronização interna em meio de 0,2% (v/v) HNO₃ (■-), vinagre agrin de vinho branco (●-) e vinagre agrin de vinho tinto (▲-) empregando Ru com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6.

A determinação direta de Pb em vinagre não é aconselhada sem a padronização interna quando se emprega o modificador Ru com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂, pois efeitos de matriz estão presentes. As inclinações das curvas analíticas são bem diferentes (Figura 28), sendo os coeficientes angulares iguais a 0,0019 (ácido nítrico), 0,0015 (vinagre de vinho branco) e 0,0013 (vinagre de vinho tinto).

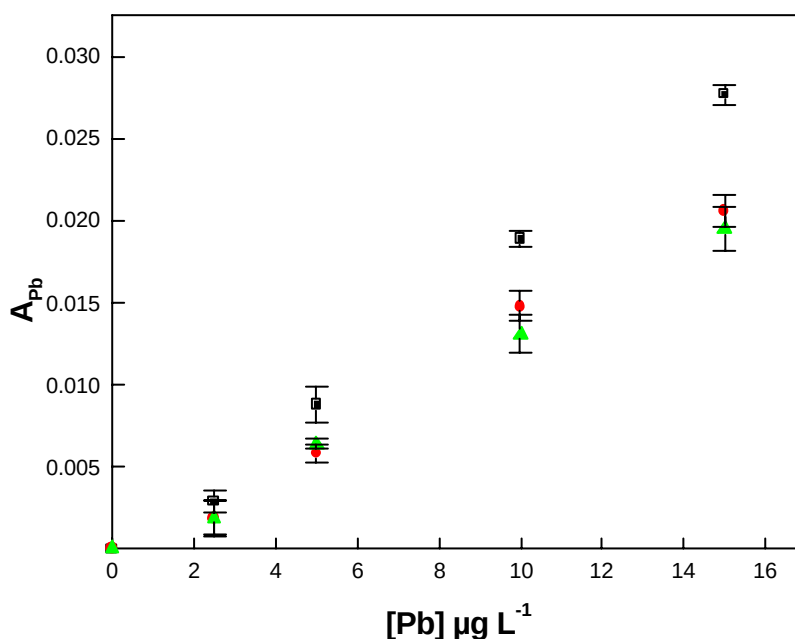


Figura 28. Curvas analíticas para Pb obtidas em meio de 0,2% (v/v) HNO₃ (■-), vinagre agrin de vinho branco (●-) e vinagre agrin de vinho tinto (▲-) empregando Ru com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ como modificador químico. Programa de aquecimento conforme Tabela 6.

A escolha do modificador químico é um parâmetro que pode afetar significativamente o desempenho do padrão interno¹⁰². Isto pode ser visualizado comparando-se as Figuras 27 e 28, nas quais fica evidente os benefícios da padronização interna na minimização das interferências de matriz. Os gráficos de correlação somente foram considerados como uma ferramenta prévia para avaliar a potencialidade do bismuto como padrão interno nos diferentes modificadores. Além disso, é importante ressaltar que um gráfico de correlação obtido para um branco ou uma amostra, num determinado modificador químico, mesmo apresentando correlação satisfatória, não garante que o padrão interno será eficaz para outras amostras. Contudo, um gráfico de correlação que apresente uma baixa correlação, seja para um branco ou para uma amostra, sugere que o padrão interno não será viável também para as demais amostras. Os estudos iniciais sugeriram que o modificador W com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ fosse o melhor modificador para o par Pb-Bi, mas na prática o Ru com co-injeção de Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ foi o mais eficiente.

5.5 Padronização interna e vida útil do tubo de grafite

O desgaste da superfície da plataforma do tubo de grafite é ocasionado pelos sucessivos ciclos de aquecimento do tubo, juntamente com o desgaste via reações químicas provenientes da matriz da amostra ou reagentes co-injetados. Esse desgaste deteriora o atomizador, podendo ocorrer variações na absorbância, prejudicando então a precisão e exatidão dos resultados analíticos. É necessário, portanto, trocar o atomizador periodicamente, de preferência quando houver variações na sensibilidade e quando a precisão (r.s.d.) atingir um determinado valor de referência pré-estabelecido pelo analista (geralmente r.s.d. maiores que 10%). A padronização interna permite prolongar a vida útil do tubo de grafite, pois este pode ser usado mesmo após o início do processo de deterioração^{45,49}. Quando o tubo inicia o processo de deterioração, há perda em sensibilidade e precisão para o analito, mas se ambas forem na mesma magnitude para o padrão interno, o efeito pode ser minimizado se a razão das absorbâncias for utilizada no lugar da absorbância do analito apenas. O potencial da padronização interna no aumento da vida útil do tubo de grafite foi avaliado injetando-se alíquotas de vinagre diluído contendo $25 \mu\text{g L}^{-1} \text{ Pb} + 50 \mu\text{g L}^{-1} \text{ Bi}$ até que uma diminuição significativa da absorbância fosse observada.

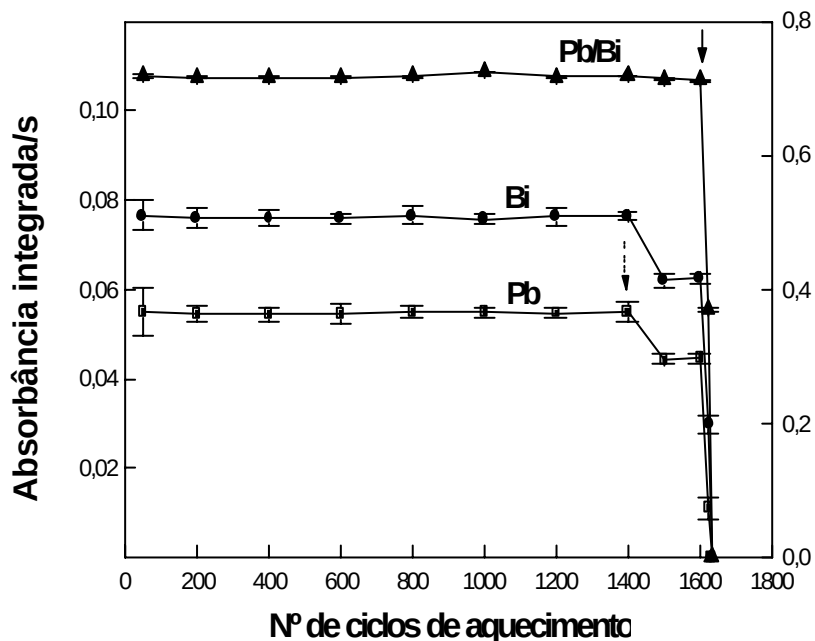


Figura 29. Estabilidade do tubo de grafite. Absorbância corresponde a vinagre (1 + 1, v/v) contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Bi empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. As setas pontilhada e cheia indicam o momento de substituição do tubo sem e com a padronização interna, respectivamente.

Observa-se na figura acima que as absorbâncias de Pb e Bi diminuem a partir de 1400 ciclos de aquecimento, pela deterioração do tubo de grafite. O emprego da padronização interna aumentou a vida útil do tubo em aproximadamente 200 ciclos, pois a razão das absorbâncias de Pb e Bi permaneceu constante, mesmo com a deterioração do tubo de grafite.

A vida útil correspondente a 1600 ciclos foi expressiva, cerca de 4 vezes maior que a vida útil normal de um tubo utilizado com o modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, por exemplo, o que contribui para redução dos custos de análise. Entretanto, esse estudo foi realizado com um tubo de grafite apenas, o que significa que não é representativo para demais tubos.

5.6 Determinação de chumbo em vinagres comerciais

5.6.1 Determinação direta de Pb em vinagres comerciais empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e padronização interna

O método proposto para a determinação direta de chumbo em vinagres comerciais aplica a padronização interna. Para fins de comparação de resultados a determinação também foi feita com a aplicação da padronização interna após a digestão das amostras e por compatibilização de matriz. O programa de aquecimento otimizado para a determinação de Pb em vinagre foi aquele descrito na Tabela 6. As amostras foram preparadas diretamente nos copinhos do amostrador automático, e no caso da digestão em forno de microondas, como descrito no item 4.1.3.

A Tabela 11 apresenta os valores para a determinação de Pb em vinagres comerciais com o modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. A ordem das amostras não corresponde a ordem descrita no item 4.1.2.

Tabela 11. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão ($n=4$) da determinação de Pb em amostras de vinagre.

Amostras	Compatibilização de matriz	Com PI 0,2% (v/v) HNO₃	Com PI Digestão em MW)
1	2,6 ± 0,3	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,3
2	9,4 ± 1,0	10,0 ± 0,4	9,6 ± 0,6
3	14,4 ± 1,5	14,2 ± 0,5	13,5 ± 0,9
4	16,6 ± 1,8	16,6 ± 0,6	15,5 ± 1,1
5	12,4 ± 1,3	13,0 ± 0,5	12,9 ± 1,3
6	3,8 ± 0,4	4,0 ± 0,2	4,3 ± 0,8
7	7,4 ± 0,8	7,8 ± 0,3	8,1 ± 1,3
8	29,4 ± 3,1	29,0 ± 1,1	27,6 ± 1,5
9	11,6 ± 1,2	11,0 ± 0,4	10,5 ± 0,9
10	16,6 ± 1,8	15,3 ± 0,6	15,7 ± 1,4
11	10,2 ± 1,1	12,4 ± 0,5	11,8 ± 1,6
12	17,4 ± 1,8	16,2 ± 0,6	17,0 ± 1,5
13	11,8 ± 1,0	11,6 ± 0,4	11,9 ± 1,1
14	37,0 ± 3,9	34,8 ± 1,3	33,8 ± 2,0
15	13,2 ± 1,0	11,6 ± 0,4	12,7 ± 1,0
16	25,0 ± 2,7	22,7 ± 0,9	23,8 ± 1,7
17	11,0 ± 1,2	10,2 ± 0,4	10,6 ± 0,8
18	13,2 ± 1,4	12,8 ± 0,5	13,0 ± 0,6
SRM 1*	28,61 ± 0,56	28,59 ± 0,66	-----
SRM 2*	18,66 ± 0,47	17,69 ± 0,41	-----

* SRM 1: 1640 Trace Elements in Natural Water ($27,89 \pm 0,14 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb);

** SRM2: 1643d Trace Elements in Water ($18,15 \pm 0,64 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb).

As concentrações de Pb determinadas nas amostras de vinagre variaram de 2,6 a 37 $\mu\text{g L}^{-1}$. Foram encontradas diferentes concentrações de Pb nos vinagres analisados. A amostra de vinagre balsâmico foi a que apresentou a maior concentração de Pb, enquanto que a amostra de vinagre de limão foi a que apresentou menor concentração nos métodos propostos. Esta variação

provavelmente se deve pelas diferentes matérias-primas utilizadas na fabricação dos vinagres ou diferentes processos de fabricação. A complexidade da amostra pode ocasionar erros de amostragem e efeito de matriz na determinação de Pb em vinagre por GF AAS que podem ser corrigidos pelo uso da padronização interna.

Testes estatísticos foram aplicados com o objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados. As médias das determinações por padronização interna, diretamente e após digestão em MW e por compatibilização de matriz foram avaliadas pelo teste *t - Student* pelo qual pode-se constatar que não existe diferença significativa entre elas ao nível de 95% de confiança. A análise estatística revelou que as médias encontradas para os materiais certificados são comparáveis com os valores certificados e que os resultados obtidos são precisos a 95% de confiança, segundo teste F.

Na Tabela 11 estão os desvios padrão obtidos com a padronização interna (0,1-1,3), com a padronização interna após digestão (0,3-2,0) e por compatibilização de matriz (0,3-3,9). Estes foram comparados por meio do teste F, e não há uma diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança. Para complementar a avaliação do desempenho do método, foram feitos testes de adição e recuperação de Pb em amostras de vinagre. Este tem como principal objetivo avaliar possíveis efeitos múltiplos de matriz, ou seja, calcular a concentração da espécie química de interesse na amostra após a adição de uma quantidade conhecida desse analito à amostra¹⁰³. Os testes de adição e recuperação foram feitos em 10 amostras enriquecidas com Pb. As recuperações foram obtidas com padronização interna, sem padronização interna e com compatibilização de matriz (Tabela 12).

Tabela 12. Recuperações ($n=4$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de vinagre preparadas com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb.

Amostras	Recuperação %		
	Compatibilização de matriz	Sem PI	Com PI
1	84 (3,5)	74 (4,0)	108 (2,5)
2	86 (2,1)	80 (5,3)	97 (1,5)
3	83 (3,8)	81 (5,6)	103 (2,2)
4	86 (3,2)	76 (7,2)	96 (2,1)
5	102 (2,7)	79 (7,3)	101 (1,6)
6	87 (1,0)	82 (8,3)	98 (0,6)
7	83 (1,4)	77 (4,7)	101 (0,7)
8	95 (2,3)	86 (5,8)	102 (1,9)
9	92 (1,3)	72 (6,4)	99 (1,1)
10	93 (1,4)	85 (5,0)	106 (0,6)

As recuperações variaram de 83 a 102% com compatibilização de matriz e de 72 a 86% e 96 a 108% sem e com a padronização interna, respectivamente. Há trabalhos na literatura que utilizam a faixa 85 - 115% de recuperação como aceitáveis, tal como o método 7105 (NIOSH) empregado para a determinação de Pb em amostras ambientais 7105¹⁰⁴. Comparando os resultados obtidos para a determinação e recuperação, é possível constatar que a aplicação da padronização interna melhora a exatidão e precisão dos resultados.

Os limites de detecção calculados foram $0,8$ e $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$, sem e com a padronização interna, respectivamente, $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ para a compatibilização de matriz e $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ com padronização interna após digestão. Os respectivos limites de quantificação foram $2,7$ e $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (sem e com padronização interna), $2,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (compatibilização de matriz) e $2,7 \mu\text{g L}^{-1}$ (com padronização interna após digestão).

A massa característica calculada foi de 40 pg para todos os métodos propostos, sendo estes consideravelmente sensíveis, se comparados com o valor apresentado pelo manual do equipamento, que é de 50 pg para o modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

As principais características analíticas do método proposto para a determinação de Pb em vinagre empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e a padronização interna estão compiladas na Tabela 13.

Tabela 13. Características analíticas do método proposto para a determinação de Pb em vinagre empregando Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico.

Parâmetro	Valor
Temperatura de pirólise (°C)	1000
Temperatura de atomização (°C)	2000
Massa característica (mo; pg)	40
r.s.d. (%)	0,6 - 3,8
Recuperação (%)	96 – 108
[Pb], $\mu\text{g L}^{-1}$	2,5 – 15,0
[Bi], $\mu\text{g L}^{-1}$	25,0
LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$	0,3
LOQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	1,2
Volume injetado, μL	20
Massa de modificador, μg	500 (Ru); 5 (Pd); 3 (Mg)
Vida útil do tubo de grafite	1600
Frequência analítica	18 determinações por hora

5.6.2 Determinação direta alternativa de Pb em vinagres comerciais empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

Um método alternativo foi desenvolvido na presença do modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. As curvas analíticas neste caso, foram preparadas em meio 0,2% (v/v) HNO_3 , uma vez que esse modificador minimizou os efeitos de matriz de vinagre para a determinação direta de Pb. O programa de aquecimento otimizado para a determinação de Pb em vinagre foi aquele descrito na Tabela 6. As amostras foram preparadas diretamente nos copinhos do amostrador automático, como descrito no item 4.2.3. Novamente a ordem das amostras não corresponde a ordem descrita no item 4.1.2.

A Tabela 14 ilustra os valores para a determinação de Pb em vinagres comerciais com esse modificador.

Tabela 14. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão ($n=4$) da determinação de Pb em amostras de vinagre

Amostras	0,2% (v/v) HNO₃	Digestão em MW
1	2,8 ± 0,3	3,0 ± 0,4
2	9,2 ± 0,7	8,1 ± 0,8
3	13,0 ± 1,0	12,8 ± 0,4
4	15,2 ± 1,2	14,3 ± 1,1
5	12,8 ± 1,0	13,0 ± 0,5
6	4,4 ± 0,4	5,0 ± 0,5
7	8,8 ± 0,9	9,4 ± 0,9
8	26,6 ± 1,9	24,2 ± 1,4
9	10,4 ± 0,8	11,7 ± 1,2
10	15,6 ± 1,2	13,6 ± 1,3
11	11,6 ± 0,9	10,5 ± 0,5
12	18,0 ± 1,5	20,2 ± 0,6
13	11,2 ± 0,9	10,2 ± 0,3
14	32,4 ± 2,6	30,3 ± 5,5
15	12,8 ± 1,0	12,8 ± 1,0
16	24,6 ± 2,0	22,5 ± 2,2
17	10,4 ± 0,8	10,8 ± 2,0
18	13,4 ± 1,1	13,2 ± 2,4
SRM 1*	27,56 ± 0.34	-----
SRM 2*	17,95 ± 0.28	-----

* SRM 1: 1640 Trace Elements in Natural Water ($27,89 \pm 0,14 \mu\text{g L}^{-1} \text{Pb}$);

** SRM2: 1643d Trace Elements in Water ($18,15 \pm 0,64 \mu\text{g L}^{-1} \text{Pb}$).

As concentrações de Pb determinadas nas amostras de vinagre variaram de 2,8 a 32,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Novamente, a amostra de vinagre balsâmico apresentou a maior concentração de Pb, enquanto que a amostra de vinagre de limão foi a que apresentou menor concentração.

As médias das determinações encontradas neste modificador foram comparadas por meio do teste *t de student*, com as médias das determinações na presença do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e constatou-se que não existe diferença significativa entre elas ao nível de 95% de confiança. As concentrações encontradas para as amostras de vinagre analisadas são cerca de 30 a 300 vezes menores que as concentrações máximas estabelecidas pelo *Codex Alimentarius* (1 mg L^{-1}) e pela legislação brasileira ($0,8 \text{ mg L}^{-1}$).

As médias encontradas para os materiais certificados são comparáveis com os valores certificados e os resultados obtidos são precisos a 95% de confiança, segundo teste F.

Os desvios padrão foram (0,3-2,6) e (0,3-5,5) para a determinação direta e após a digestão, respectivamente. Os desvios padrão dos resultados para a determinação com W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foram comparados por meio do teste F, e não há uma diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança. Os desvios padrão dos resultados comparados entre os modificadores Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ também não apresentaram diferença significativa entre as precisões ao nível de 95% de confiança.

Os testes de adição e recuperação foram feitos em 8 amostras para W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, enriquecidas com Pb. As recuperações obtidas com encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15. Recuperações ($n=4$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de vinagre preparadas com $2 \mu\text{g L}^{-1}\text{Pb}$.

Amostras	Recuperação %
1	90 (3,0)
2	90 (2,9)
3	105 (3,6)
4	95 (2,1)
5	95 (2,3)
6	95 (1,5)
7	100 (0,8)
8	110 (0,9)

As recuperações variaram neste método de 90 a 110%. Os limites de detecção calculados foram 0,4 e 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o método direto e após digestão, respectivamente. Os respectivos limites de quantificação foram de 1,4 e 1,9 $\mu\text{g L}^{-1}$. A massa característica calculada foi de 40 pg para ambos os métodos.

Quando comparado ao método proposto na presença do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, é possível observar que o método alternativo é menos sensível e preciso. Além disso, o tempo de vida útil do tubo de grafite é praticamente o dobro na presença do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Contudo, o método alternativo é recomendado se um equipamento monoelementar estiver disponível, o que é bastante provável em análises de rotina.

As principais características analíticas para o método alternativo de determinação de Pb em vinagre estão compiladas na Tabela 16.

Tabela 16. Características analíticas do método alternativo proposto para a determinação de Pb em vinagre empregando W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico.

Parâmetro	Valor
Temperatura de pirólise ($^{\circ}\text{C}$)	1000
Temperatura de atomização ($^{\circ}\text{C}$)	1800
Massa característica (m_0 ; pg)	40
r.s.d. (%)	0,8 – 8,0
Recuperação (%)	90 – 110
[Pb], $\mu\text{g L}^{-1}$	2,5 – 20,0
L.O.D., $\mu\text{g L}^{-1}$	0,4
L.O.Q., $\mu\text{g L}^{-1}$	1,4
Massa de modificador, μg	250 (W); 5 (Pd); 3 (Mg)
Volume injetado, μL	20
Vida útil do tubo de grafite	730
Frequência analítica	18 determinações por hora

A precisão obtida pelos métodos propostos foi comparada com desvios de métodos já existentes na literatura para a determinação de Pb em vinagres (Tabela 17).

Tabela 17. Desvios padrão relativos dos métodos propostos e existentes na literatura para determinação direta de Pb em vinagres.

Método	%r.s.d.
Diluição - $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Vinagres balsâmicos ²⁷	4-38
Diluição - $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Vinagres balsâmicos ²⁸	3-21
Diluição - $\text{Ru} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ - compatibilização de matriz	1,0 - 10,6
Diluição - $\text{Ru} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ - padronização interna	0,6 - 3,8
Diluição - $\text{W} + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ – direto	0,8 – 8,0

A precisão obtida pelos autores das referências 27 e 28 levou os mesmos a descartarem a possibilidade de determinação direta, recomendando a digestão das amostras. Apesar das amostras selecionadas pelos autores serem diferentes das utilizadas neste trabalho, a otimização daqueles métodos com os modificadores aqui apresentados poderia oferecer àqueles autores resultados analíticos mais satisfatórios uma vez que os elevados teores de Pb encontrados permitem altas diluições das amostras.

6. CONCLUSÕES

A escolha do bismuto como padrão interno para a determinação direta de chumbo em vinagre por GF AAS, foi feita inicialmente analisando-se a similaridade entre as propriedades físico-químicas desses elementos e considerando-se a aplicação prévia do bismuto como padrão interno para a determinação de chumbo em vinhos. Essas propriedades compreenderam as constantes físico-químicas que estão diretamente relacionadas à formação dos átomos gasosos no estado fundamental e os mecanismos de modificação química e atomização. Posteriormente, experimentos em laboratório, envolvendo o estudo do comportamento térmico de Pb e Bi em vários modificadores químicos e a construção de gráficos de correlação evidenciaram que na presença do modificador químico W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ o bismuto seria um padrão interno promissor para esse problema analítico.

A avaliação da influência da matriz de vinagre na absorbância de Pb e Bi demonstrou que a padronização interna na presença do modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, previamente escolhido como modificador mais promissor, não minimizou as interferências de matriz. Contudo, na presença do modificador Ru com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ estas foram minimizadas. Desta forma, constatou-se que a padronização interna sofreu influência da natureza do modificador químico empregado, pois a simples mudança do metal W para Ru, provavelmente favoreceu a formação de precursores atômicos similares para Pb e Bi.

Os resultados obtidos com os gráficos de correlação não foram conclusivos e apenas sugeriram que a aplicação do bismuto como padrão interno para a determinação de chumbo em vinagre na presença do modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ seria eficiente. Além disso, um gráfico de correlação construído para um branco ou uma amostra, que apresente um coeficiente de correlação próximo ao valor ideal ($r = 1$) pode não ser representativo para as demais amostras. Entretanto, um gráfico que apresente uma correlação insatisfatória entre as absorbâncias do analito e padrão interno, sugere fortemente que o padrão interno não é eficaz.

O método proposto com a padronização interna minimizou os efeitos de matriz e melhorou a precisão e a exatidão dos resultados, demonstrando ser uma

estratégia eficiente em determinações diretas por GF AAS. Além disso, prolongou a vida útil do tubo de grafite em 200 ciclos de aquecimento, permitindo seu uso mesmo em fase de deterioração até 1600 ciclos de aquecimento. Esse benefício foi significativo, pois o tubo de grafite é o item que mais encarece os custos de uma análise química por GF AAS.

Na ausência de um equipamento simultâneo, recomenda-se empregar o método alternativo para a determinação direta de chumbo em vinagre com o modificador W com co-injeção de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

As principais vantagens da aplicação do método proposto com relação ao método alternativo foram a melhoria da exatidão e precisão dos resultados, o maior tempo de vida útil do tubo de grafite e os menores limites de detecção e quantificação obtidos.

As médias das concentrações encontradas para o método proposto e para o alternativo foram concordantes ao nível de 95% de confiança e variaram de 2,6 a 37 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo aproximadamente de 30 a 300 vezes menores que as concentrações máximas estabelecidas pelo *Codex Alimentarius* (1 mg L^{-1}) e pela legislação brasileira (0,8 mg L^{-1}). O desenvolvimento de novos métodos analíticos cada vez mais sensíveis para a determinação de contaminantes em alimentos, pode levar os órgãos responsáveis pelo estabelecimento dos teores máximos permitidos a refletirem e revisarem esses teores, contribuindo para um controle de qualidade mais efetivo.

7. REFERÊNCIAS

1 AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDEL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. p. 183-207.

2 MORETTO, E.; ALVES, R. F.; ARCHER, P. M. B.; CAMPOS, C. M. T.; PRUDÊNCIO, A. J. **Vinhos e vinagres (processamento e análises)**. Florianópolis: Ed. Da UFSC, 1988. 167 p.

3 PEDERSON, C. S. **Microbiology of food fermentation**. Westport: AVI, 1971. p. 260-264.

4 SILVA, L. T. **Processo de fabricação e controle de qualidade de vinagres**. 58 f. 2004. Monografia (Bacharelado em Química Tecnológica) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

5 CONNER, H. A.; ALGEIER, R. J. Vinegar. It's history and development. **Advance Applied Microbiology**, v. 20, p. 81-133, 1976.

6 GREENSHIELD, R. N. Acid acetic: vinegar. In: ROSE, A. H. (Ed.). **Primary products of metabolism**. Londres: Academic Press, 1978. v. 2, p. 121-186.

7 ULMANNS, F. **Enciclopédia de química industrial**. Barcelona: Editorial Gustavo Gili, 1951. p. 552-585.

8 HAEHN, H. **Bioquímica das fermentaciones**. Madri: Aguilar, 1956. p. 583-595.

9 AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blucher, 1983. p. 104-122.

10 TESFAYE, W.; MORALES, M. L.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 12-21, 2002.

- 11 GOMEZ, M. L. M.; BELLIDO, B. B.; TESFAYE, W.; FERNANDEZ, R. M. C.; VELENCIA, D. V.; FERNANDEZ-PACHON, M. S.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; GONZALES, A. M. T. Sensory evaluation of sherry vinegar: traditional compared to accelerated aging with oak chips. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 3, p. 238-242, 2006.
- 12 RUBIO-FERNANDEZ, H.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G. Influence of fermentation oxygen partial pressure on semicontinuous acetification for wine vinegar production. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 4, p. 393-397, 2004.
- 13 BRASIL. Decreto nº 99.066, de 08 de março de 1990. Regulamenta a Lei 7678, de 08 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados do vinho e da uva. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1990-1994/D99066.htm. Acesso em: 14 set. 2006.
- 14 CONSONNI, R.; GATTI, A. 1H-NMR studies on Italian balsamic and traditional balsamic vinegars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3446-3450, 2004.
- 15 TESFAYE, W.; MORALES, M. L.; BENÍTEZ, B.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 1, p. 239-245, 2004.
- 16 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/prfruta/vinagre/comp.htm>. **Produtos alimentícios vegetais: vinagre de maçã**. Acesso em: 13 set. 2006.
- 17 INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Vinagre de vinho tinto e de vinho branco**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/vinagre.asp>. Acesso em: 14 set. 2006.
- 18 MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 251-260, 2004.
- 19 AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 353-398.

- 20 SEILER, H. G.; SIGEL, H. **Handbook on toxicity of inorganic compounds**. New York: Marcel Dekker, 1988. p. 79-93.
- 21 CANUTO, M. H.; SIELBALD, H. G. L.; FRANCO, M. B.; SILVA, J. B. B. Determination of Al, Cd, and Pb in Brazilian Sugar Cane Spirit, Cachaça, by ET AAS using matrix-matched calibration. **Atomic Spectroscopy**, v. 25, n. 3, p. 140-144, 2004.
- 22 VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C. B. **Modern methods for trace element determination**. New York: John Wiley & Sons, 1997.
- 23 ACOSTA, A.; DIAZ, C.; HARDISSON, D.; GONZALEZ, D. Levels of Cd, Pb, e Ni in different types of vinegars. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 51, n. 6, p. 852-856, 1993.
- 24 CORRADINI, F.; MARCHESELLI, L.; MARCHETTI, A.; PRETI, C.; BIANCARDI, J. Analysis of heavy metals in aceto balsamico tradizionale di Modena by flame atomic absorption spectroscopy. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 3, p. 714-718, 1994.
- 25 SUTUROVIC, Z. J.; MARJANOVIC, N. J.; DOSTANIC, N. M. Potenciometric stripping analysis of lead in vinegars: development of a method. **Nahrung Food**, v. 41, n. 2, p. 111-113, 1997.
- 26 SIGNORE, A. D.; CAMPISI, B. Characterization of balsamic vinegar by multivariate statistical analysis of trace element content. **Journal of AOAC International**, v. 81, n. 5, p. 1087-1095, 1998.
- 27 NDUNG'U, K.; HIBDON, S.; FLEGAL, A. R. Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: evaluation of different sample preparation procedure. **Talanta**, v. 64, p. 258-263, 2004.
- 28 COCHI, M.; FRANCHINI, G.; MANZINI, D.; MANFREDINI, M.; MARCHETTI, A.; ULRICI, A. A chemometric approach to the comparison of different sample treatments for metals determination by atomic absorption spectroscopy in aceto balsamico tradizionale di Modena. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4047-4056, 2004.

29 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. **Codex Stan 162-1987**. Disponível em:

<http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/prfruta/vinagre/codex.htm>.

Acesso em: 15 set. 2006.

30 FERNANDES, K. G. **Padronização interna em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite**: emprego de bismuto como padrão interno na determinação de chumbo em vinhos. 2001. 117 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

31 KAUFMANN, A. Lead in wine. **Food Additives and Contaminants**, v. 15, n. 4, p. 437-445, 1998.

32 OSHITA, D.; OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M. 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.

33 MERTZ, W. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5th ed. New York: Academic Press, 1987. v. 1, 480 p.

34 MERTZ, W. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5th ed. New York: Academic Press, 1986. v. 2, 499 p.

35 WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3rd ed. Weinheim: VCH, 1999. 941 p.

36 BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. **A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 250 p.

37 JACKSON, K. W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. Chichester: John Wiley, 1999. 470 p.

38 VINADÉ, M. E. C.; VINADÉ, E. R. C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. 240 p.

39 HARNLY, J. M. The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array detector. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, p. 137-146, 1999.

40 WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry – what can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220-229, 2003.

41 SAINT'PIERRE, T. D. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais traço em álcool combustível e gasolina por espectrometrias de absorção atômica e de massa com plasma indutivamente acoplado**. 2004. 107 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

42 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5th ed. New York: Saunders College, 1998. 848 p.

43 PERKIN ELMER. **Recommended conditions for THGA furnaces**. Uberlinguer, 1991.

44 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; CORREIA, P. R. M.; 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.

45 OLIVEIRA, A. P. **Uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite na determinação de Se e Ni em bebidas não alcoólicas**. 2005. 127 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

46 OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, 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.

47 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.

48 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.

49 FERNANDES, K. G.; MORAES, M.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Evaluation and application of bismuth as an internal standard for the determination of lead in wines by simultaneous electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analyst**, v. 127, n. 1, p. 157-162, 2002.

50 RADZIUK, B.; ROMANOVA, N.; THOMASSEN, Y. Evaluation of internal standardisation in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Communication**, v. 36, n. 1, p. 13-16, 1999.

51 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.

52 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.

53 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.

54 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. **Frenesius' Journal Analytical Chemistry**, v. 361, n. 6/7, p. 532-539, 1998.

55 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.

56 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.

- 57 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.
- 58 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.
- 59 MASMANN, H. Evaluation of internal standardization in electrothermal atomic absorption spectrometry. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, REINSTSTOFFE IN WISSENSCHAFT AND TECHNIK, 2nd, 1966, Berlin. **Resumos...** Berlin: Akademie Verlag, 1966. p. 297.
- 60 BUTLER, L. R. P.; STRASHEIM, A. Multiple element atomic absorption analysis. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 21, n. 1, p. 1207-1216, 1965.
- 61 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.
- 62 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.
- 63 FELDMAN, F. J.; BLASI, J. A. The use of internal standard to eliminate interferences in hemoglobin iron determinations by atomic absorption. **Clinical Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 970, 1969.
- 64 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.
- 65 FELDMAN, F. J. Internal standardization in atomic emission and absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 719-724, 1970.
- 66 TAKADA, T.; NAKANO, K. Internal standard method in flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 36, n. 7, p. 735-745, 1981.

67 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.

68 SILVA, F. V.; MARTINS, J. C.; BIZAIIO, 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.

69 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.

70 GÁSPAR, A.; BERNDT, H. Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: new flame method. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 240-246, 2000.

71 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.

72 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 furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, n. 5, p. 759-763, 2005.

73 CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V. Cobalt as internal standard for arsenic and selenium determination in urine by simultaneous atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 67, n. 1, p. 46-53, 2005.

74 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.

75 SU, Y. D.; LI, J.; HUANG, Y.; CHEN, L. W. Application of internal standardization to rapid coprecipitation technique using APDC-Cu(II) for FAAS determination of lead in salt. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v. 26, n. 3, p. 564-566, 2006.

76 OLIVEIRA, S. R.; GOMES NETO, J. A. Evaluation of Bi as internal standard to minimize matrix effects on the direct determination of Pb in vinegar by GF AAS using Ru permanent modifier with co-injection of Pd/Mg(NO₃)₂. **Spectrochimica Acta, Part B**. Submetido.

77 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.

78 FRESCHI, G. P. G.; FRESCHI, C. D.; GOMES NETO, J. A. Evaluation of Ir, Ru, and W as permanent modifier for the simultaneous determination of As, Bi, Pb, Sb, and Se in natural water by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, v. 27, n. 1, p. 1-6, 2006.

79 MERMET, J. M.; IVALDI, J. C. Real-time 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.

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

81 VOGEL, A. **Química analítica quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1992. p. 115-116.

82 HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. p. 68-73.

83 CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 105-126, 1999.

84 LEITE, F. **Validação em análise química**. 4. ed. Campinas: Átomo, 2002. p. 67.

85 STURGEON, R. E.; MITCHEL, D. F.; BERMAN, S. S. Atomization of lead in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 1059-1064, 1983.

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

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

88 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.

89 AGGETT, J.; SPROTT, J. Non-flame atomization in atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 72, p. 49-56, 1974.

90 WEAST, R. C. **Handbook of chemistry and physics**. 55th ed. Boca Raton: CRC, 1975. p. F204-F212.

91 FRESCHI, G. P. G. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação direta e simultânea de elementos traço em leite por GF AAS: uma avaliação do desempenho de diferentes modificadores químicos**. 2005. 155 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

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

93 VOLYNSKY, A. B. Mechanisms of action of platinum group modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 55, p. 103-150, 2000.

94 VOLYNSKY, A. B.; TIKHOMIROV, S.; ELAGIN, A. Proposed mechanism for the action of palladium and nickel modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analyst**, v. 116, n. 2, p. 145-148, 1991.

- 95 VOLYNSKY, A. B. Chemical modifiers based on platinum-group metal compounds in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 502-520, 2004.
- 96 VOLYNSKY, A. B. Application of graphite tubes modified with high-melting carbides in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, n. 4, p. 509-535, 1998.
- 97 VOLYNSKY, A. B. Catalytic processes in graphite furnaces for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 51, n. 13, p. 1573-1589, 1996.
- 98 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.
- 99 BARBOSA, F.; LIMA, E. C.; KRUG, F. J. Determination of arsenic in sediment and soil slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry using W-Rh permanent modifier. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2079-2083.
100. SILVA, J. B. B. DA; BORGES, D. L. G.; ANDREIA, M.; VEIGA, M. S. DA; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier. **Talanta**, v. 60, n. 5, p. 977-982, 2003.
- 101 VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 3. ed. Rio de Janeiro: Vieira, 1980.
- 102 CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V. Avaliação da padronização interna em espectrometria de absorção atômica utilizando gráficos de correlação. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 539-543, 2005.
- 103 THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; FAJGELJ, A.; WILLETS, P.; WOOD, R. Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement (technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 337- 348, 1999.
- 104 NIOSH. **Manual of analytical methods**. 2nd ed. Washington, 1977. v. 1, p. 77A-157A.