

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS MATERIAIS**

**ANA CAROLINE SONCIN DA SILVA**

**QUANTIFICAÇÃO DE METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM MEXILHÃO  
DOURADO (*Limnoperna fortunei*) POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO  
ATÔMICA COM FONTE CONTÍNUA E ALTA RESOLUÇÃO EMPREGANDO  
AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS**

Ilha Solteira

2016

**ANA CAROLINE SONCIN DA SILVA**

**QUANTIFICAÇÃO DE METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM MEXILHÃO  
DOURADO (*Limnoperna fortunei*) POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO  
ATÔMICA COM FONTE CONTÍNUA E ALTA RESOLUÇÃO EMPREGANDO  
AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais da Faculdade de Engenharia – UNESP – Campus Ilha Solteira, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de Conhecimento: Química dos Materiais

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mirian Cristina dos Santos  
Orientador

Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto  
Coorientador

Ilha Solteira

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Silva, Ana Caroline Soncin da.

S586q Quantificação de metais potencialmente tóxicos em mexilhão dourado (Limnoperna fortunei) por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução empregando amostragem direta de sólidos / Ana Caroline Soncin da Silva. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2016  
108 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2016

Orientador: Mirian Cristina dos Santos  
Co-orientador: José Anchieta Gomes Neto  
Inclui bibliografia

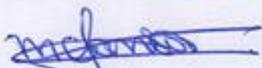
1. Mexilhão dourado. 2. Toxicidade. 3. Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

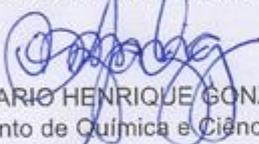
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: QUANTIFICAÇÃO DE METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM MEXILHÃO DOURADO (*Limnoperna fortunei*) POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FONTE CONTÍNUA E ALTA RESOLUÇÃO EMPREGANDO AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS

AUTORA: ANA CAROLINE SONCIN DA SILVA  
ORIENTADORA: MIRIAN CRISTINA DOS SANTOS  
CO-ORIENTADOR: JOSE ANCHIETA GOMES NETO

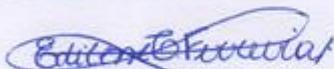
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: QUÍMICA DOS MATERIAIS, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MIRIAN CRISTINA DOS SANTOS  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química de Araraquara



Prof. Dr. MARIO HENRIQUE GONZALEZ  
Departamento de Química e Ciências Ambientais / Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas - UNESP - São José do Rio Preto



Profa. Dra. EDILENE CRISTINA FERREIRA  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química de Araraquara

Ilha Solteira, 29 de março de 2016

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, aos meus pais José e Gislene, a minha irmã Vanessa, ao anjo de quatro patas Manu e ao meu amor Álvaro.

Muito obrigada!

## **AGRADECIMENTOS**

### **A DEUS**

Pela chance de evolução nessa permanência temporária aqui na Terra, por sempre conceder sustentação física e emocional nos momentos de dificuldade, ajudando-me a superar todos os obstáculos.

### **A MINHA FAMÍLIA**

Pela singular educação, pelo amor e carinho incondicionais, bem como por me instruírem a sempre seguir meus sonhos, enfrentando com honestidade tudo aquilo que me for proposto. A minha irmã Vanessa, que não só me ensinou a ler e a escrever, como também o gosto pelos estudos e é minha inspiração para tudo. E, ao meu namorado Álvaro, por demonstrar o poder que um sorriso e um abraço, ambos verdadeiros e provenientes dos mais belos sentimentos que podem existir entre duas pessoas, têm em restabelecer as forças vitais.

### **À UNESP**

Campus Ilha Solteira, por fornecer a base dessa pesquisa, e ao Instituto de Química de Araraquara, pelo acolhimento e infraestrutura na execução da parte experimental da mesma.

### **AOS PROFESSORES**

Mirian Cristina dos Santos, pela qualidade no trabalho de orientação, pela estadia em sua residência e pela oportunidade na aquisição de novos conhecimentos através do desenvolvimento desse trabalho no Instituto de Química de Araraquara.

José Anchieta Gomes Neto, pela coorientação extraordinária, disponibilizando tempo e atenção sempre que necessário.

A todos os professores que tive a oportunidade de conhecer e que me acolheram e me aconselharam com seus conhecimentos para que minhas dúvidas pudessem ser solucionadas.

### **AO GRUPO DE ESPECTROANALÍTICA E AUTOMAÇÃO DE ARARAQUARA**

Pelo carinho e pela dedicação ao progresso desse estudo, que só atingiu os resultados aqui demonstrados graças ao amparo de cada um dos membros dessa equipe. Levarei cada um de vocês para sempre em meu coração e em minha mente.

**AO PROFESSOR PAULO CEZAR CERESINI DO DEPARTAMENTO DE FITOSSANIDADE, ENGENHARIA RURAL E SOLOS – DEFERS DE ILHA SOLTEIRA**

Por oferecer deferência a essa pesquisa e por conceder o uso do equipamento para a realização do procedimento de liofilização.

**AOS AMIGOS E COLEGAS DE CURSO**

Pela troca de experiências e, principalmente, pelas alegrias e gargalhadas compartilhadas.

**À CAPES**

Pelo auxílio financeiro.

*“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.”*

**Abraham Lincoln**

## RESUMO

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) tem provocado transtornos ambientais e econômicos nas localidades onde foi introduzido. Dessa forma, o uso do seu resíduo moído como reparador da defasagem de nutrientes e de acidez em solos agrícolas pode vir a ser uma boa aplicação para esse molusco bioinvasor. Entretanto, apesar dessa ação reparadora, é necessária uma averiguação prévia da ausência de elementos potencialmente tóxicos no resíduo. Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com o intuito de quantificar, em amostras do *Limnoperna fortunei*, os elementos chumbo, cádmio, alumínio, ferro e manganês, os quais dependo de suas quantidades podem ser tóxicos aos vegetais e aos demais seres vivos ao longo da cadeia alimentar. Para quantificação desses analitos foi utilizada a Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e de alta resolução. Foram desenvolvidos e otimizados programas de aquecimento para a determinação dos elementos traço chumbo e cádmio, empregando amostragem direta de sólidos e atomização com forno de grafite. A determinação direta de chumbo só foi possível com a utilização da calibração com o material de referência certificado para tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976), empregando 5 µL da mistura 0,1% (m/v) Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 0,05% (m/v) Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em presença de 0,05% (m/v) de Triton X-100 como modificador químico. As temperaturas de pirólise e atomização foram 1000°C e 2200°C, respectivamente. O estudo de massa permitiu a utilização de massas de amostras dentro da faixa de 0,150 a 0,850 mg. Para o cádmio só foi realizada calibração com solução padrão 12,5 µg/L, também com o uso de 5 µL do modificador químico Pd+Mg. Assim, foram alcançadas temperaturas de pirólise de 900 °C e de 1600 °C para a atomização. O estudo de massa precisou ser desenvolvido com uma das amostras coletadas e demonstrou que puderam ser usadas, para as quantificações, massas próximas a 0,250 mg. Os limites de detecção e quantificação foram, nessa ordem, 0,009 mg/kg e 0,03 mg/kg para o chumbo, e 0,0004 e 0,001 mg/kg para o cádmio. No caso dos elementos alumínio, ferro e manganês, as quantificações foram realizadas utilizando a atomização com chama. Os limites de detecção e quantificação foram, respectivamente, 0,15 mg/kg e 0,50 mg/kg para o alumínio, 0,050 mg/kg e 0,15 mg/kg para o ferro, e 0,00067 mg/kg e 0,0023 mg/kg para o manganês. Os resultados para todos os elementos quantificados nesse estudo apresentaram concordância de 95% com o test-t (Student) não pareado, o que valida e viabiliza os métodos desenvolvidos para as quantificações de chumbo e cádmio, bem como comprova a exatidão dos demais resultados

obtidos. Portanto, as técnicas analíticas selecionadas foram eficientes para as quantificações dos elementos desejados no resíduo moído desse mexilhão dourado.

**Palavras-chave:** Mexilhão dourado. HR-CS GF AAS. HR-CS FAAS. Amostragem direta de sólidos. Toxicidade.

## ABSTRACT

The golden mussel (*Limnoperna fortunei*) has caused environmental and economic disruption in the locations where it was introduced. Thus, the use of their ground waste as repairer of the gap of nutrients and acidity in soils may prove to be a good application for this mollusk bio invader. However, despite of this remedial action, a prior test of the absence of potentially toxic elements in the residue is required. In this context, the present study was performed in order to quantify, in samples of the *Limnoperna fortunei*, the elements lead, cadmium, aluminum, iron and manganese, which depending on their quantities they can be toxic to plants and other living beings throughout the food chain. To quantify these analytes was used high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. Heating programs were developed and optimized for the determination of lead and cadmium trace elements, using direct solid and graphite furnace atomization. The direct determination of lead was only possible with the use of calibration with certified reference material for mussel tissue (Mussel Tissue - 2976), using 5 uL of the mixture 0.1% (m/v) Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 0.05% (w/v) Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in the presence of 0.05% (w/v) Triton X-100 as a chemical modifier. The temperatures of pyrolysis and atomization were 1000 ° C and 2200 ° C respectively. The mass study allowed the use of samples of mass within the range of 0.150 to 0.850 mg. For cadmium it was only performed calibration with standard 12.5 g/L solution, also using 5 uL chemical modifier Pd + Mg. Thus, pyrolysis temperatures were reached 900 ° C and 1600 ° C for atomization. The mass study needed to be developed with one of the samples collected and it showed that they could be used for the measurements, masses close to 0,250 mg. The limits of detection and quantification were, in this order, 0.009 mg/kg and 0.03 mg/kg to lead, and 0.0004 and 0.001 mg/kg to cadmium. In case of the elements aluminum, iron and manganese, the measurements were carried out using atomization with a flame. The limits of detection and quantification were, respectively, 0.15 mg/kg and 0.50 mg/kg to aluminum, 0.050 mg/kg and 0.15 mg/kg for iron, and 0.00067 mg/kg and 0.0023 mg/kg to manganese. The results for all quantified elements of this study showed agreement of 95% with the t-test (Student) unpaired, which validates and enables the methods developed for lead and cadmium quantifications and proves the accuracy of the other results. Therefore, the selected analytical techniques were efficient to the quantifications of the desired elements in the ground waste this golden mussel.

**Keywords:** Golden mussel. HR-CS GF AAS. HR-CS FAAS. Direct Solid Samples. Toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de funcionamento da água de lastro .....	27
Figura 2 - Incrustação de mexilhão dourado em uma embarcação .....	28
Figura 3 - Particularidades da concha do mexilhão dourado.....	28
Figura 4 - Demonstração dos constituintes da parte interna do mexilhão dourado.....	29
Figura 5 - Espectroscópio de Bunsen e Kirchhoff, sendo: (1) chama; (2) colimador; (3) prisma; (4) telescópio e (5) plataforma.....	33
Figura 6 - Instrumento de Lockyer, sendo: (A) o atomizador; (B) o tubo de ferro; (C) dispositivo Kipp; (D) lâmpada elétrica e (E) espectrógrafo com dispositivo fotográfico.....	34
Figura 7 - HCL e cada uma das suas partes constituintes .....	36
Figura 8 - HCL específica para a quantificação do elemento chumbo.....	36
Figura 9 - Representação esquemática de um espectrômetro de HR-CS AAS, onde: (1) lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais focalizadores, (3) atomizador, (4) fenda de entrada, (5) espelhos parabolóides, (6) prisma, (7) fenda intermediária ajustável, (8) rede echelle e (9) detector CCD .....	38
Figura 10 - Lâmpada de arco curto de xenônio, empregada no novo conceito da AAS, a HR - CS AAS.....	39
Figura 11 - Lâmpada de arco curto de xenônio funcionando, na esquerda sem o modo hot spot e na direita com o modo hot spot.....	40
Figura 12 - Absorbância versus tempo como uma forma de disposição dos dados obtidos com a HR-CS AAS, no pixel central 318,540 nm de uma solução aquosa de vanádio .....	41
Figura 13 - Valores alcançados com a HR-CS AAS e organizados em absorbância integrada versus comprimento de onda, sendo que a linha pontilhada em vermelho corresponde ao pixel central em 318,540 nm .....	42
Figura 14 - Triplete de absorção (318,397; 318,341 e 318,540 nm) de uma solução aquosa de vanádio apresentados de forma tridimensional.....	42
Figura 15 - Efeito da correção para eventos contínuos do software presente no detector CCD da absorbância em função do tempo, no pixel central 228,802.....	44
Figura 16 - Interferências espectrais de moléculas de PO e de SiO na linha principal de chumbo (217,0005 nm).....	60

Figura 17 - Curvas da otimização da temperatura de pirólise de 600 a 1600 °C no <i>Limnoperna fortunei</i> : ■ Parte interna (sem modificador químico); ● Parte interna (com modificador químico); ▲ Concha (sem modificador químico); ▼ Concha (com modificador químico) .....	61
Figura 18 - Curva do estudo de pirólise de 600 a 1600 °C: ■ Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (sem modificador químico) e ● Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (com modificador químico) .....	62
Figura 19 - Espectros de absorção atômica para o chumbo (283,3060 nm), referentes à influência do modificador químico no perfil do pico das amostras de concha: (A) sem Pd+Mg e (B) com 5 µL Pd+Mg .....	63
Figura 20 - Espectros de absorção atômica para o chumbo (283, 3060 nm) referentes à influência do modificador químico no perfil do pico das amostras da parte interna: (A) sem Pd+Mg e (B) com 5 µL Pd+Mg.....	64
Figura 21 - Espectro obtido a partir do SiO <sub>2</sub> e 5 µL do modificador químico .....	65
Figura 22 - Demonstração da eficiência de correção de fundo com o sistema LSBC para a parte interna do mexilhão dourado, em que: (A) espectro sem correção e (B) espectro submetido à correção LSBC .....	66
Figura 23 - Curvas da otimização da temperatura de atomização de 1800 a 2600 °C no <i>Limnoperna fortunei</i> :■ Parte interna (sem modificador químico), ● Parte interna (com modificador químico), ▲ Concha (sem modificador químico) e ▼ Concha (com modificador químico) .....	67
Figura 24 - Curva do estudo de atomização de 1800 a 2600 °C: ■ Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (sem modificador químico) e ● Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (com modificador químico) .....	68
Figura 25 - Influência do modificador químico para a temperatura de atomização, em que: (A) parte interna sem modificador químico; (B) parte interna com modificador químico; (C) concha sem modificador químico e (D) concha com modificador ..	69
Figura 26 - Gráfico do ambiente espectral do cádmio (228, 8018 nm), evidenciando a ausência de interferências de fundo estruturado .....	71
Figura 27 - Curva de pirólise para o cádmio : ● Parte interna e ■ Concha, ambas com modificador químico.....	72
Figura 28 - Curva da avaliação do comportamento térmico do Cd em solução padrão 20 µg/L do mesmo .....	73

Figura 29 - Perfis dos picos obtidos para o cádmio para parte interna e para a concha do <i>Limnoperna fortunei</i> , com temperatura de pirólise a 900 °C, sendo: (A) parte interna e (B) concha.....	74
Figura 30 - Curvas de atomização para o Cd: ● Parte interna e ■ Concha das amostras de mexilhão dourado, ambas com o uso do modificador químico .....	75
Figura 31 - Curva de atomização para a solução padrão 20 µL/L de Cd .....	76
Figura 32 - Perfis de pico obtidos para o cádmio com a temperatura de atomização em 1600 °C, em que: (A) parte interna e (B) concha .....	77
Figura 33 - Estudo de massa mínima com o CRM (Mussel Tissue – 2976) para a determinação de chumbo em mexilhão dourado no intervalo de 0,05 a 1 mg .....	82
Figura 34 - Estudo de massa mínima com a amostra de mexilhão dourado para a determinação de cádmio, no intervalo de 0,05 a 0,55 mg. ....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais pesquisas realizadas com o emprego da HR-CS AAS com atomização em forno de grafite (HR-CS GF AAS) e em chama (HR-CS FAAS), desde o início até os dias atuais .....	46
Tabela 2 - Programa de moagem criogênica otimizado empregado nas amostras de mexilhão dourado .....	55
Tabela 3 - Primeiro programa de aquecimento utilizado para a decomposição por via úmida das amostras da parte interna do mexilhão dourado, em que a temperatura máxima foi de 300 °C.....	57
Tabela 4 - Programa de aquecimento do forno de micro-ondas para as amostras da parte interna, em que a temperatura máxima atingida foi de 280 °C .....	57
Tabela 5 - Programa de aquecimento do forno de micro-ondas para as amostras de concha, em que a temperatura máxima atingida foi de 300 °C.....	58
Tabela 6 - Programa de aquecimento otimizado e completo, utilizado nas quantificações de chumbo nas amostras de <i>Limnoperna fortunei</i> por meio da HR-CS GF AAS .....	70
Tabela 7 - Programa de aquecimento otimizado e completo para as demais otimizações, com o intuito de realizar a quantificação de cádmio nas amostras de mexilhão dourado .....	78
Tabela 8 - Parâmetros das curvas de calibração para chumbo construídas com o CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e com a solução padrão 200 µg/L de chumbo, ambas com modificador químico.....	80
Tabela 9 - Parâmetros da curva de calibração para cádmio feita com a solução padrão de 12,5 µg/L desse analito .....	81
Tabela 10 - Comparação dos resultados obtidos para a quantificação (n = 3) de chumbo nos CRMs LUTS-1 e 1566b com a HR–CS GF AAS, com os valor fornecido pelo NRCC e pelo NIST .....	84
Tabela 11 - Concentrações adicionadas e recuperadas de cádmio para exatidão do método proposto.....	85
Tabela 12 - Concentrações de chumbo deterrminadas nas amostras (n = 3) de mexilhão dourado com a HR-CS GF AAS .....	86
Tabela 13 - Determinações de cádmio nas amostras (n = 3) de mexilhão dourado ( <i>Limnoperna fortunei</i> ) por meio da HR-CS GF AAS .....	87

Tabela 14 - Dados das curvas de calibração, como equação da reta e coeficiente de correlação linear.....	89
Tabela 15 - Demonstração da exatidão dos resultados (n=3) das determinações por HR-CS FAAS com o CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) .....	90
Tabela 16 - Concentrações de alumínio, ferro e manganês encontradas nas amostras de mexilhão dourado (n= 3) com a HR-CS FAAS .....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>IMO</b>	Organização Marítima Internacional
<b>MEPC</b>	Comitê de Proteção do Meio Ambiente Marinho
<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>FRX</b>	X-ray Florescence (Fluorescência de Raios X)
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>AAS</b>	Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica)
<b>HCL</b>	Hollow Cathode Lamps (Lâmpada de Catodo Oco)
<b>FAAS</b>	Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica em Chama)
<b>GF AAS</b>	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
<b>STPF</b>	Stabilized Temperature Platform Furnace (Forno de Plataforma com Temperatura Estabilizada)
<b>HR – CS AAS</b>	High-resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua)
<b>DEMON</b>	Double-Echelle Monochromator (Monocromador Duplo de Alta Resolução)
<b>CCD</b>	Charge-coupled Device (Dispositivo de Carga Acoplada)
<b>LS AAS</b>	Line Source Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha)

<b>HR-CS GF AAS</b>	High-resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução e atomização com forno de grafite)
<b>HR-CS GF AAS</b>	High-resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução e atomização com chama)
<b>DSS</b>	Direct Solid Sampling (Amostragem Direta de Sólidos)
<b>SiS</b>	Slurry Sampling (Amostragem em Suspensão)
<b>LIBS</b>	Laser-induced Breakdown Spectroscopy (Espectrometria de Emissão com Plasma Induzido por Laser)
<b>LA ICP-MS</b>	Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometria de Massa por Ionização Acoplada por Plasma com Ablação a Laser)
<b>LA ICP-OES</b>	Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente com Ablação a Laser)
<b>ETV ICP-MS</b>	Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Vaporização Eletrotérmica Acoplada a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)
<b>CRM</b>	Material de Referência Certificado
<b>NIST</b>	National Institute of Standards and Technology (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia)
<b>NRCC</b>	National Research Council of Canada (Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá)

<b>T<sub>a</sub></b>	Temperatura de atomização
<b>T<sub>p</sub></b>	Temperatura de pirólise
<b>m<sub>0</sub></b>	Massa caracteística
<b>RSD</b>	Desvio Padrão Relativo
<b>LSBC Least</b>	Square Background Correction (Correção de fundo por mínimos quadrados)
<b>LOD</b>	Limit Of Detection (Limite de Detecção)
<b>LOQ</b>	Limit Of Quantification (Limite de Quantificação)
<b>CP</b>	Pixel Central

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>25</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>MEXILHÃO DOURADO.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2</b>	<b>O SOLO E OS ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS.....</b>	<b>30</b>
<b>3.3</b>	<b>ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA.....</b>	<b>32</b>
<b>3.3.1</b>	<i>Histórico.....</i>	<b>32</b>
<b>3.4</b>	<b>ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FONTE CONTÍNUA E ALTA RESOLUÇÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>3.4.1</b>	<i>Constituintes instrumentais.....</i>	<b>37</b>
<b>3.4.2</b>	<i>Características que garantem a excelência analítica da HR-CS AAS.....</i>	<b>44</b>
<b>3.4.3</b>	<i>Aplicações da HR-CS AAS.....</i>	<b>45</b>
<b>3.5</b>	<b>AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS .....</b>	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1</b>	<b>INSTRUMENTAÇÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>4.2</b>	<b>AMOSTRAS .....</b>	<b>54</b>
<b>4.3</b>	<b>REAGENTES E SOLUÇÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>4.4</b>	<b>PREPARO DAS AMOSTRAS PARA A ATOMIZAÇÃO COM CHAMA.....</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1</b>	<b>OTIMIZAÇÃO DOS PROGRAMAS DE AQUECIMENTO PARA ATOMIZAÇÃO EM FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS.....</b>	<b>59</b>
<b>5.1.1</b>	<i>Análise do comportamento térmico do chumbo.....</i>	<b>59</b>
<b>5.1.2</b>	<i>Análise do comportamento térmico do cádmio .....</i>	<b>70</b>
<b>5.3</b>	<b>ANÁLISE DAS FIGURAS DE MÉRITO.....</b>	<b>78</b>
<b>5.3.1</b>	<i>Calibração.....</i>	<b>79</b>
<b>5.3.1.1</b>	<i>Intervalos lineares para o chumbo.....</i>	<b>79</b>
<b>5.3.1.2</b>	<i>Intervalos lineares para o cádmio.....</i>	<b>80</b>
<b>5.3.2</b>	<i>Estudo de massa mínima.....</i>	<b>81</b>

5.3.2.1	<i>Massa mínima para o chumbo</i> .....	81
5.3.2.2	<i>Massa mínima para o cádmio</i> .....	82
<b>5.3.3</b>	<b><i>Exatidão</i></b> .....	<b>84</b>
5.3.3.1	<i>Exatidão do método para chumbo</i> .....	84
5.3.3.2	<i>Exatidão do método para cádmio</i> .....	85
<b>5.3.4</b>	<b><i>Determinação de chumbo e cádmio nas amostras de <i>Limnoperna fortunei</i></i></b> .....	<b>86</b>
5.3.4.1	<i>Quantificações de chumbo</i> .....	86
5.3.4.2	<i>Quantificações de cádmio</i> .....	87
<b>5.4</b>	<b>DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO, FERRO E MANGANÊS POR HR-CS FAAS</b> .....	<b>88</b>
5.4.1	<i>Calibração</i> .....	88
5.4.2	<i>Exatidão</i> .....	89
5.4.3	<i>Quantificação dos analitos nas amostras</i> .....	90
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>93</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>94</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>95</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A integração econômica e social entre os países, ou seja, a globalização, contribuiu significativamente para o desenvolvimento e para o crescimento da utilização do transporte marítimo, uma vez que este transporte possibilita conduzir uma vasta quantidade de produtos para as mais distantes regiões do mundo a baixo custo e pouco tempo. Esse meio aquaviário de levar mercadorias, matérias-primas e pessoas é responsável por 80 a 90% do traslado de bens do comércio internacional do planeta <sup>1, 2</sup>. Entretanto, da mesma forma que transportam os bens de consumo que alimentam o comércio mundial, essas embarcações carregam consigo, na água de lastro ou encrustado em seus cascos, uma série de espécies exóticas, que se dispersam e acabam se tornando pragas ambientais e econômicas por onde se depositam <sup>3</sup>.

A água de lastro é usada para dar estabilidade às embarcações quando as mesmas não estão carregadas. Essa água é bombeada no porto de origem e despejada no porto de destino. É essa troca de águas que provoca a transferência de organismos vivos variados como, por exemplo, bactérias, e micróbios, vírus, pequenos invertebrados, algas, plantas, cistos, esporos, além de ovos e larvas de vários animais de uma região para outra. O fato de as viagens estarem sendo realizadas cada vez mais em um curto intervalo de tempo também facilita a sobrevivência e a adaptação dessas espécies invasoras ao novo ambiente em que estão sendo deixadas <sup>4, 5</sup>.

Diante desse impasse ambiental, em 1990, a Organização Marítima Internacional (IMO), em parceria com Comitê de Proteção do Meio Ambiente Marinho (MEPC), fundou um Grupo de Trabalho para estabelecer medidas de controle, com caráter voluntário, da água de lastro. Assim, foi aconselhado que se substituísse a água presente nos tanques de lastro dos navios antes de atingirem a distância de 200 milhas náuticas do porto de destino, e os locais onde seriam realizadas as permutas deveriam possuir pelo menos 200 metros de profundidade e a troca volumétrica precisaria ser 95% eficiente <sup>6, 7</sup>.

No Brasil, o cuidado com a água de lastro é feito pela NORMAM-20/2014 da Diretoria de Portos e Costas, pela Resolução ANVISA-RDC n° 72/2009 e pela Lei n° 9.966/2000. Estas, além de recomendarem a troca oceânica, também estabelecem que os navios precisam entregar à Autoridade Marítima e à Anvisa um formulário corretamente preenchido sobre a água de lastro <sup>6, 8, 9, 10</sup>.

Porém, essas medidas não estão sendo eficientes, causando, assim, riscos ao meio ambiente e ao homem. Isso porque essas especificações estabelecem: a troca da água de lastro

em alto mar, o que ameaça a segurança do navio; procedimentos de tratamento químico (incluir biocidas na água de lastro e passar tinta antiincrustante nos cascos das embarcações) e tratamento físico (tratamento térmico ou esterilização por ozônio, por luz ultravioleta e por corrente elétrica), que são tóxicos, insignificantes do ponto de vista da eficácia, além de caros. Também existe uma outra alternativa, que é a retirada dos organismos incrustados por raspagem, remoção manual ou com o uso de jatos de água, o que soluciona o problema apenas temporariamente e naquela localidade <sup>11</sup>.

Deste modo, o estudo do aproveitamento de organismos normalmente vistos como praga, mas que na verdade apresentam alguma aplicabilidade nas mais diversas áreas, é cada vez mais viável, como é o caso das análises do mexilhão dourado <sup>12, 13</sup>.

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), um dos organismos vivos transportados pelas embarcações, é um exemplo da ineficiência das medidas propostas para o controle da água de lastro. É uma espécie invasora, proveniente do sudeste da Ásia, que tem causado problemas ambientais e prejuízos para os sistemas de captação de água, de resfriamento de usinas hidrelétricas e aos motores de embarcações, no Lago de Itaipu no Rio Paraná e nas usinas hidrelétricas de Ilha Solteira, Jupiá e Porto Primavera <sup>12, 13</sup>.

Como os solos brasileiros são predominantemente ácidos, o que atrapalha o crescimento do sistema radicular, diminui a capacidade de troca catiônica e dificulta a absorção de água e nutrientes pelas plantas. O molusco *Limnoperna fortunei* que, é composto essencialmente por nitrogênio, fósforo e carbonato de cálcio, provenientes da concha e da parte interna do mesmo, apresenta potencial para ser utilizado como corretor da defasagem nutricional e da acidez em solos agricultáveis, como já foi proposto na literatura <sup>3, 11</sup>.

Para poder garantir a boa aplicabilidade do resíduo moído de mexilhão em solos, é indispensável a averiguação da ausência de elementos potencialmente tóxicos, tanto para o desenvolvimento das plantas como para os seres humanos. Isso pois, esses elementos estando presentes no ar, no solo ou na água, podem facilmente se introduzir na cadeia alimentar e, ao totalizarem elevadas concentrações nas plantas, nos animais e no homem, ocasionar problemas de toxicidade ao longo dos níveis tróficos <sup>14</sup>.

Por volta de vinte metais são considerados tóxicos, sendo que a maioria destes não desempenham nenhuma função vital no organismo humano. O chumbo (Pb) é um deles, pois não garante nenhum benefício ao bem-estar dos seres vivos. Ele se acumula em nossos tecidos, ou por meio da ingestão de alimentos contaminados ou através da inalação e contato com a pele, causando, por exemplo, náuseas, vômito, disfunção cerebral, paralisia e inflamação no trato gastrointestinal. Diante disso, são estabelecidos limites referentes à

quantidade desse elemento em alimentos, tais como 1 a 2 mg/kg para as hortaliças e 0,3 a 0,5 mg/kg para os sucos e frutas. No solo, o chumbo é o menos móvel dentre os metais pesados, com sua mobilidade diminuindo com o aumento do pH. É encontrado tanto no estado de oxidação +2 ( $Pb^{+2}$ ) como no +4 ( $Pb^{+4}$ ) e está agregado à matéria orgânica, ao hidróxido de alumínio, às argilas minerais, óxido de manganês e de ferro <sup>15, 16</sup>.

Quanto ao alumínio (Al), o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, não existe nenhuma evidência que comprove a sua essencialidade no que concerne à saúde humana e ao desenvolvimento das plantas. Pelo contrário, indivíduos diagnosticados com mal de Alzheimer continuam concentrações 4 a 6 vezes maiores desse elemento em seu organismo. No solo, concentra-se na litosfera, em terrenos predominantemente ácidos, com  $pH < 6$ , sob a forma de alumínio solúvel, que é tóxico e impede o desenvolvimento de culturas agrícolas, o que pode ser solucionado com a prática da calagem ou adubação fosfatada <sup>16, 17</sup>.

O ferro (Fe) é um nutriente primordial. O Comitê Misto FAO/OMS (FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura e OMS - Organização Mundial da Saúde) aconselha uma ingestão diária máxima tolerável deste nutriente de 0,8 mg/kg de peso corpóreo. No solo, ele se precipita na forma de óxidos e hidróxidos. Sua quantidade solúvel é muito baixa quando comparada à quantidade de ferro total. Em condições anaeróbicas, é reduzido de  $Fe^{+3}$  para  $Fe^{+2}$ , sendo este último mais solúvel; sob condições ácidas, é possivelmente tóxico <sup>15, 17</sup>.

O manganês (Mn) é o elemento traço com menor potencial de toxicidade, ou seja, é considerado um macronutriente para as plantas, mas em elevadas concentrações atrapalha o desenvolvimento destas, provocando manchas necróticas ao longo do tecido condutor e deficiência de ferro. No ser humano, atua na síntese de lipídeos e de hormônios da tireóide, porém, quando ingerido ou inalado em grandes quantidades (a dose diária recomendada fica entre 0,002 a 9 mg/kg), causa doenças no sistema nervoso central e alucinações. No solo, é encontrado acumulado como óxidos e hidróxidos nas partes mais profundas e mais frequentemente sob a forma de  $Mn^{+2}$ . A quantidade média de manganês no solo é de 500 – 900 mg/kg <sup>15, 17</sup>.

O cádmio (Cd), da mesma forma que o alumínio e o chumbo, é um elemento não essencial ao bom desenvolvimento dos cultivos vegetais. Além disso, também é classificado como um dos elementos de maior toxicidade para as plantas, animais e para os seres humanos. A contaminação por cádmio causa danos ao sistema nervoso e aos órgãos hepáticos. Esse elemento não é encontrado em estado puro na natureza. Está sempre ligado ao zinco e por isso

é muito encontrado em minérios de zinco, zinco-chumbo e zinco cobre. Devido a sua alta toxicidade, a FAO/OMS determinou como 0,070 a 0,084 mg/dia (para um adulto de 70 kg), a quantidade máxima admissível para ingestão de cádmio. Nos solos não contaminados, a concentração desse metal tóxico chega a ser de 0,1 a 0,5 mg/kg<sup>18, 19, 20</sup>.

Diante disso, a Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução, é uma técnica analítica que possibilita a identificação e a quantificação desses elementos com primor, uma vez que possui baixo custo para a realização das análises, alta sensibilidade e seletividade, aptidão para correção de fundo, baixos limites de detecção e capacidade de utilização de amostras sólidas e em suspensão, o que dispensa os morosos procedimentos de preparo das mesmas, reduzindo o risco de contaminação das amostras e de geração de resíduos<sup>21</sup>.

Então, no primeiro capítulo deste trabalho, é exibida uma visão generalizada do tema desenvolvido, bem como uma breve apresentação da disposição do conteúdo ao longo desse estudo.

No segundo capítulo são apresentados os objetivos gerais e específicos, assim como, a justificativa para o desenvolvimento dessa pesquisa.

O terceiro capítulo expõe a revisão bibliográfica do trabalho. Ele é dedicado à apresentação das características do material de estudo, da origem e história da técnica analítica utilizada, assim como de suas vantagens, as quais garantem a ampla empregabilidade da mesma. Também apresenta a amostragem direta de sólidos e o potencial de toxicidade no solo dos elementos pesquisados.

O quarto capítulo, é dedicado à parte experimental do trabalho e a todo o seu desenvolvimento, desde a coleta do material de pesquisa até o modo como foi feito o preparo das amostras.

No quinto capítulo são apresentadas cada uma das etapas de otimização dos programas de aquecimento para chumbo e cádmio, e as condições analíticas utilizadas nas medidas com atomização por chama. Também são expostos os resultados alcançados e suas respectivas implicações quanto as concentrações determinadas.

O sexto capítulo reúne as considerações finais relacionadas às conclusões obtidas com essa pesquisa.

O sétimo capítulo é dedicado às sugestões para trabalhos futuros, que possam vir a contribuir para melhorias e para o progresso desse estudo.

Por último, são listadas cada uma das referências bibliográficas utilizadas como embasamento teórico para o desenvolvimento deste trabalho.

## 2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi realizar a quantificação de chumbo, cádmio, alumínio, ferro e manganês no mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), por meio da Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução. Almejou-se então, avaliar a eficiência da técnica selecionada e dos programas de aquecimento desenvolvidos, bem como se as concentrações determinadas desses elementos potencialmente tóxicos estão dentro dos limites máximos para os mesmos em solos agrícolas.

### 2.2 Objetivos específicos

Especificamente, o intuito deste trabalho foi desenvolver programas de aquecimento eficientes, sendo um para a quantificação de chumbo e outro para a quantificação de cádmio no mexilhão dourado, por meio da Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução em forno de grafite, empregando amostragem direta de sólidos. Já para a determinação de alumínio, ferro e manganês, o objetivo foi utilizar a Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução em chama.

Pretendeu-se, desta forma:

- Otimizar dois programas de aquecimento: um para a quantificação de chumbo e outro para a quantificação de cádmio;
- verificar a eficiência da amostragem direta de sólidos para a quantificação dos elementos traço chumbo e cádmio;
- avaliar o potencial analítico das linhas principal (217,0005 nm) e secundária (283,3060 nm) do chumbo, e das linhas principal (228,8010 nm) e secundária (226,502 nm) do cádmio;
- analisar o potencial da Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução e da atomização com chama na determinação de alumínio, ferro e manganês, que são potencialmente tóxicos e estão presentes em alta concentração no mexilhão dourado;

- e investigar, diante das concentrações encontradas dos elementos pesquisados, a possibilidade ou não do uso do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) para fins agrícolas.

### **2.3 Justificativa**

O desenvolvimento deste trabalho fundamentou-se na possibilidade de se estabelecer as melhores condições analíticas para a determinação de chumbo, cádmio, alumínio, ferro e manganês no mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) para que, de acordo com as concentrações encontradas, pudessem ser realizados estudos que verificassem a eficiência do uso do resíduo moído desse molusco como corretor da defasagem nutricional e da acidez em solos cultiváveis.

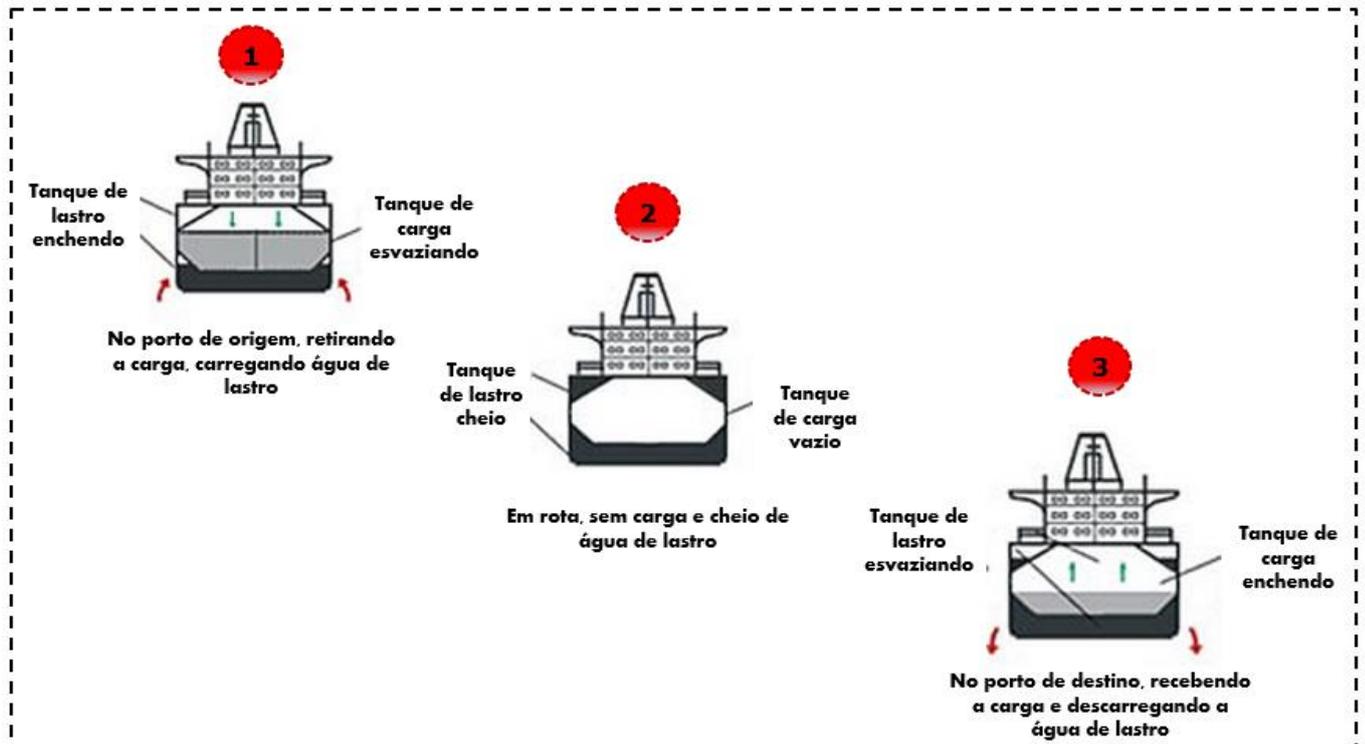
Através de estudos específicos, aprofundados e interdisciplinares da utilização desse animal para fins agrícolas, uma boa forma de aproveitamento dessa espécie invasora, que tem causado problemas ambientais e econômicos, pode ser encontrada.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Mexilhão Dourado

O mexilhão dourado possui nome científico *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), proveniente do grego, em que “Limno” significa água doce e “perna” mexilhão. Já o “fortunei” certamente está relacionado a sua excessiva quantidade ou à cor dourada de sua concha. Esta é uma espécie invasora proveniente da água de lastro dos navios e da incrustação nos mesmos (Figura 1 e 2) oriundos do sudeste da Ásia, mais especificamente da Coreia e de Hong Kong<sup>22, 23</sup>.

Figura 1- Esquema de funcionamento da água de lastro



Fonte: Adaptado da Ref. 24

Figura 2 - Incrustação de mexilhão dourado em uma embarcação



Fonte: Ref. 4

Esse animal é um molusco bivalve de água doce, pertencente à família Mytilidae, ordem Mityloida e subclasse Pteriomorpha, que apresenta alta taxa de reprodução para a formação de suas colônias; a densidade populacional chega a cerca de 100.000 a 140.000 indivíduos por m<sup>2</sup>. Sua concha é constituída por três camadas (Figura 3): o periostraco (a mais externa), a prismática calcária (formada por cristais microscópicos dispostos perpendicularmente à superfície) e por último, a camada nacarada (a mais interna, composta por lamelas horizontais). São justamente as características da concha que permitem que esse molusco consiga viver em substratos sólidos e o que o diferem, do ponto de vista morfológico, das demais espécies do grupo<sup>22, 24, 25</sup>.

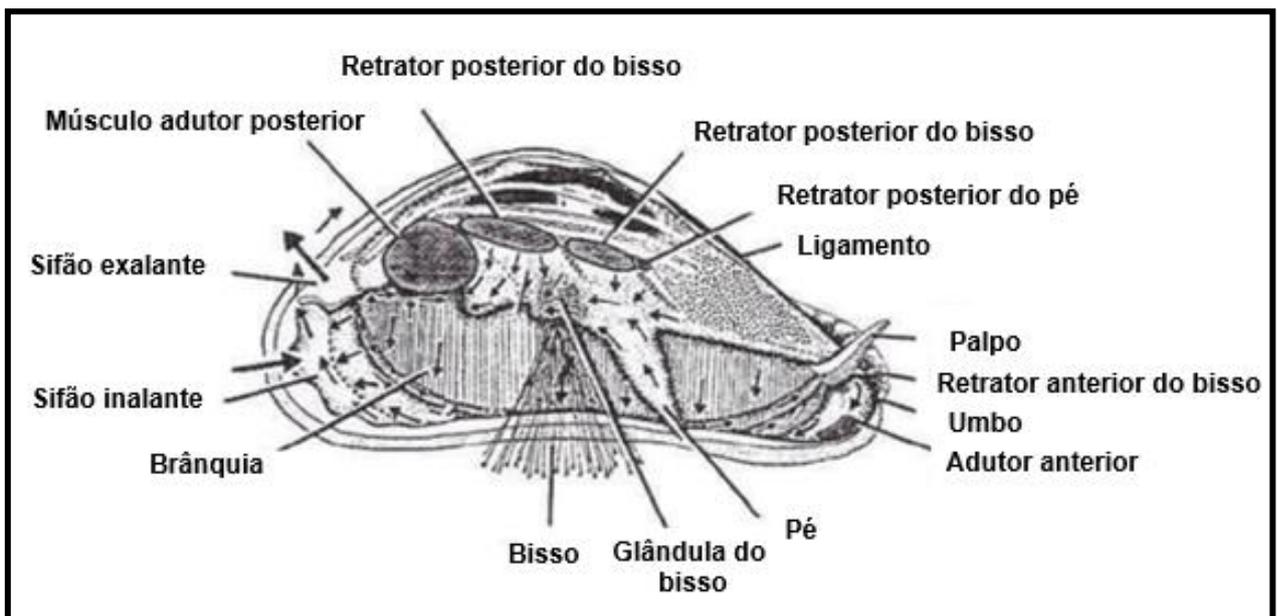
Figura 3 - Particularidades da concha do mexilhão dourado



Fonte: Ref. 22

Com relação à parte interna, existe uma camada fina de tecido chamada cavidade do manto, que afasta a concha e se adere à mesma, e é rodeada pelo manto. As brânquias são encontradas entre o manto e o pé, em cada lado do corpo, e são os cílios das brânquias que produzem as correntes que impelem a água pelo sifão inalante até a cavidade do manto e brânquias, e que também removem as partículas sólidas. Desta forma, as partículas alimentares são transportadas até a boca para serem ingeridas; já as não alimentares são circundadas em um muco secretado pelas células das brânquias e eliminadas como pseudofeces. A Figura 4 ilustra cada uma das partes que constituem o corpo do mexilhão dourado internamente <sup>26</sup>.

Figura 4 - Demonstração dos constituintes da parte interna do mexilhão dourado



Fonte: Ref. 25

Em análises realizadas com Espectrômetro de fluorescência de raios X (FRX - X-ray Florescence), após o teste de perda ao fogo, foi possível identificar  $\text{CaO}$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{MgO}$ , e  $\text{K}_2\text{O}$  como constituintes da composição química do *Limnoperna fortunei*; o composto de cálcio encontra-se em maior quantidade, uma vez que a estrutura da concha desse molusco é basicamente formada de carbonato de cálcio em sua fase aragonita <sup>27</sup>.

O mexilhão dourado é uma espécie dioica em sua maioria, no entanto, já ocorreu a identificação de indivíduos hermafroditas em uma porcentagem de 0,25% da população de suas colônias. Os órgãos sexuais se desenvolvem tanto na massa visceral como no manto, no caso dos indivíduos com separação dos sexos. A liberação dos gametas masculinos e femininos é feita na água, onde acontece a fecundação. Já nos indivíduos androginóides, os

gametas são produzidos em folículos diferentes. Todo esse processo de reprodução é influenciado pelas condições climáticas, nas quais a espécie se encontra, e o tempo de vida médio de um molusco desses é de 2 anos <sup>28</sup>.

O primeiro registro dessa espécie invasora na América do Sul aconteceu em 1991, na bacia do Rio da Prata, na Argentina. Já no Brasil, a espécie foi identificada em 1999, na bacia do rio Guaíba, em Porto Alegre – RS <sup>29, 30</sup>.

A dispersão desse organismo invasor para os estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Norte, Goiás e Rio Grande do Sul foi decorrente do transporte aquaviário Paraguai-Paraná e Paraná-Tiete. O que facilitou essa proliferação foi o fato do mexilhão dourado possuir elevada capacidade de adaptação, pois apesar de ser de água doce, ele é capaz de sobreviver tanto em água destilada, como até em soluções contendo 20% de água do mar. Ele se reproduz e cresce rapidamente e se adere aos mais diversos tipos de substratos sólidos por meio do bisco <sup>29, 30</sup>.

A introdução e proliferação desse organismo exótico tem causado transtornos ambientais e econômicos. Isso porque, do ponto de vista ambiental, esse molusco é um filtrador; pode causar biomagnificação, pois remove metais tóxicos e outras substâncias químicas presentes na água causando a contaminação de outros seres ao longo dos níveis tróficos. Ele também é encontrado fixado em raízes de plantas e animais aquáticos, competindo por espaço e alimento. Já os problemas econômicos acontecem pelo fato desse mexilhão se acumular nos cascos e motores das embarcações, e nos tanques redes de piscicultura, dificultando a oxigenação e deteriorando as redes. Ele também se incrusta nas tubulações dos sistemas de captação de água e de resfriamento das usinas hidrelétricas, o que provoca o entupimento e a corrosão desses encanamentos <sup>22, 25, 31</sup>.

### **3.2 O solo e os elementos potencialmente tóxicos**

O solo é resultante da assimilação entre litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera e é o intermédio natural para o desenvolvimento das plantas, por isso deve conter os nutrientes essenciais para o crescimento adequado das mesmas, de forma natural ou através do uso de produtos e materiais que supram os elementos inexistentes <sup>17</sup>.

A composição química do solo varia bastante, uma vez que isso depende do material do qual o solo se origina, bem como das condições climáticas que irão determinar as

lixiviações e as intempéries. Porém, no último século, as atividades antropogênicas têm causado grande interferência referente à contaminação na química do solo <sup>32</sup>.

Alguns elementos apresentam potencial tóxico quando contidos no solo, com destaque para o chumbo, o alumínio, o ferro e o manganês, ou seja, dependendo de suas concentrações, deixam de atuar como nutrientes e passam a ser vilões para a agricultura e para os demais seres que dela dependem; com exceção do chumbo e do alumínio que não desempenham nenhuma função essencial para as plantas e para o ser humano <sup>17,33</sup>.

A presença do alumínio em solos ácidos, sob a forma de  $Al^{3+}$ , é um fator limitante para o desenvolvimento das culturas vegetais, pois diminui o crescimento da raiz e a absorção de nutrientes. O  $Al^{3+}$  é um íon anfótero que pode atuar como cátion em meio ácido e como ânion em meio básico, sendo que sua solubilidade aumenta em  $pH < 5,5$ . As plantas já começam a sofrer com a toxicidade desse elemento a partir de concentrações de 1 mg/kg <sup>17, 34-36</sup>.

O ferro é tido como um dos elementos essenciais ao bom desenvolvimento das plantas, uma vez que está associado a processos vitais das mesmas como: respiração, fotossíntese, síntese de DNA e de hormônios, bem como a fixação do nitrogênio. Entretanto, este metal em concentrações elevadas, acima de 1000 mg/kg, e sob a forma de  $Fe^{2+}$ , é considerado tóxico às plantas, ocasionando manchas necróticas nelas <sup>32, 37-39</sup>.

O manganês também é primordial para muitas das atividades vitais das plantas como, por exemplo, ativação enzimática, fotossíntese e fixação de nitrogênio. Mas, assim como o ferro, em quantidades altas prejudica os cultivos, ocasionando manchas negras no tecido condutor das plantas, desde a parte inicial desse tecido até a ponta das folhas, onde o acúmulo provoca a necrose e deformação dessas folhas. A partir de quantidades acima de 1500 a 3000 mg/kg, o manganês deixa de ser um micronutriente e passa a ser lesivo <sup>17, 32, 39</sup>.

O chumbo assim como o alumínio, também é classificado como não básico para o crescimento das plantas. A resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009, estabelecida pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), determina que a quantidade máxima de chumbo permitida em solo brasileiro seja de 180 mg/kg. Concentrações elevadas desse metal ocasionam desequilíbrio nutricional nas plantas, assim como transtornos enzimáticos <sup>40, 41</sup>.

O cádmio, sendo considerado um dos elementos de maior toxicidade para as plantas e os demais seres vivos, causa distúrbios enzimáticos, aumenta a predisposição à ação de fungos nos vegetais e prejudica a raiz. A resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009, estabelecida pelo CONAMA, estipula que a concentração máxima desse metal nos solos do Brasil seja de 3 mg/kg <sup>39, 40</sup>.

Assim, a funcionalidade do solo para fins agrícolas pode ser determinada por meio do estudo físico e químico do solo, da análise do tecido das plantas e do conhecimento prévio sobre a fitotoxicidade dos elementos para o tipo do cultivo pretendido. Um outro fator importante é o pH do solo, uma vez que solos ácidos facilitam as reações de oxirredução, logo a disponibilidade do elemento em sua forma tóxica tende a aumentar. No entanto, isso pode ser facilmente solucionado com a calagem e outros corretores para a acidez do solo <sup>41</sup>.

### **3.3 Espectrometria de Absorção Atômica**

#### **3.3.1 Histórico**

A Espectrometria de absorção atômica (AAS – Atomic Absorption Spectrometry) é uma técnica analítica demasiadamente difundida para a determinação de elementos metálicos e alguns não metálicos, que estão presentes em baixas concentrações nos mais diferentes tipos de amostras <sup>42</sup>.

O princípio de funcionamento da AAS é a interação da matéria com a radiação eletromagnética. Assim, fundamenta-se na capacidade de átomos no estado gasoso, ou seja, livres, que são gerados em um atomizador, absorverem radiação eletromagnética de frequência específica, proveniente da região do ultravioleta ao visível do espectro eletromagnético, emitida por uma fonte. A quantificação dos analitos de interesse obedece à lei de Beer <sup>42</sup>.

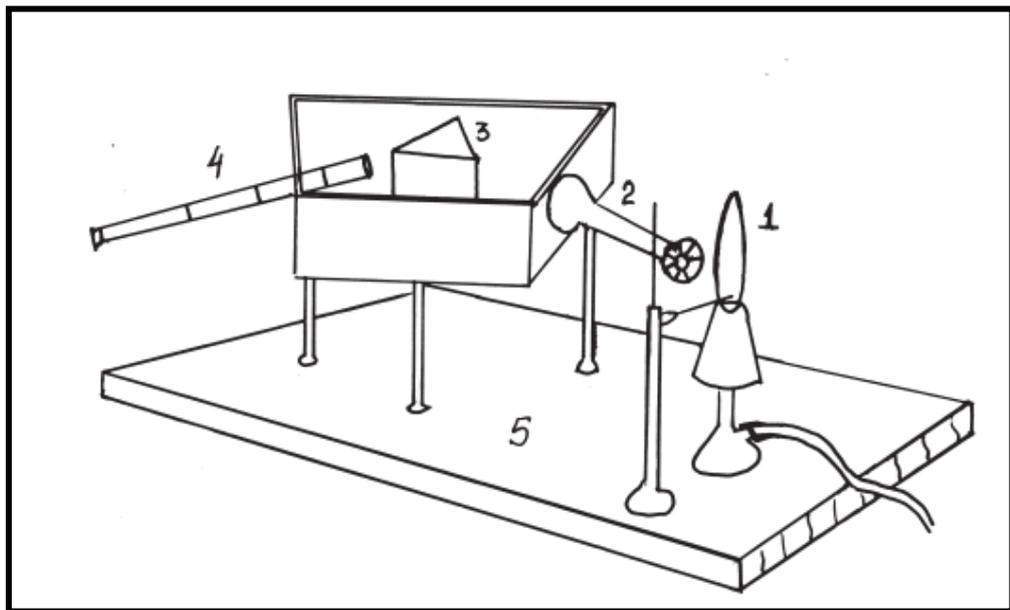
Foi por volta de 1860 que o químico Robert Wilhelm Bunsen e o físico Gustav Robert Kirchhoff desenvolveram um espectroscópio fazendo uso de uma fonte contínua como fonte de radiação luminosa. Com este espectroscópio, Bunsen e Kirchhoff perceberam a coincidência entre os espectros de emissão dos metais alcalinos e alcalinos terrosos com as linhas negras do espectro solar. Então, com este instrumento a emissão atômica despertou o interesse dos pesquisadores e foi escolhida como a técnica analítica para a determinação de metais. Isso porque, nesta época, era mais fácil mensurar um sinal luminoso em um anteparo escuro do que atenuar a intensidade de emissão frente a uma fonte luminosa <sup>43</sup>.

Na Figura 5, está representada cada uma das partes que constituem o espectroscópio desenvolvido por Bunsen e Kirchhoff, que realizava medidas de comprimento de onda de uma radiação luminosa a partir da dispersão da luz. Ele era formado por <sup>44, 45</sup>:

- uma plataforma, onde estava a chama não luminosa (o queimador de Bunsen);

- uma alça de platina, presa na plataforma, onde era colocada a amostra a ser analisada;
- um colimador, constituído de uma pequena fenda com abertura regulável, colocada no plano focal de uma lente convergente que fazia a luz incidir sobre o prisma;
- e pelo próprio prisma, responsável por fazer o raio que emerge incidir na luneta, de modo a formar uma imagem nítida.

Figura 5 - Espectroscópio de Bunsen e Kirchhoff, sendo: (1) chama; (2) colimador; (3) prisma; (4) telescópio e (5) plataforma



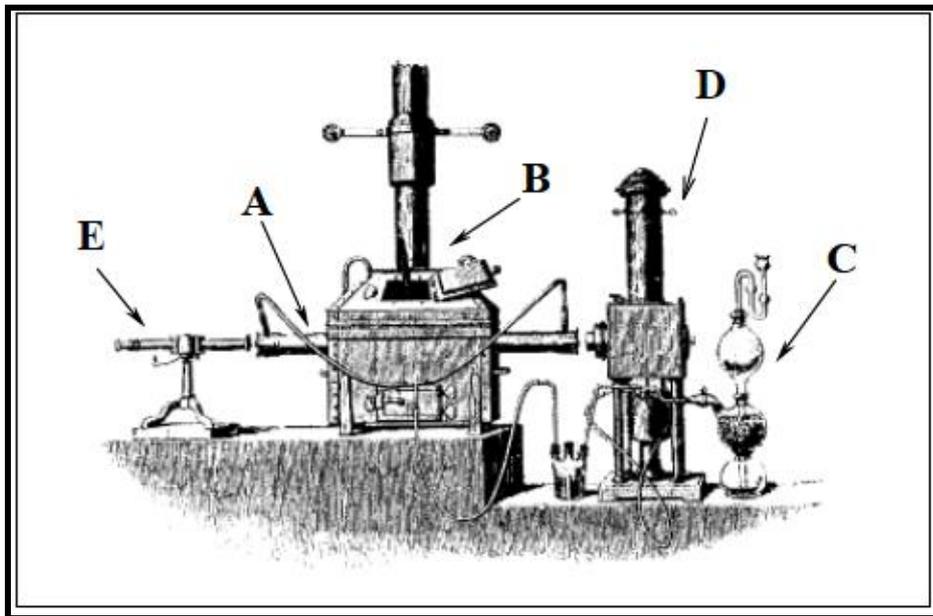
Fonte: Ref. 44

Todos esses experimentos que propiciaram a evolução da espectrometria de absorção atômica faziam emprego de uma fonte de luz que emitia um espectro contínuo da região do visível do espectro eletromagnético, uma vez que esta era a única fonte de radiação acessível na época. E, os espectroscopistas eram em sua maioria astrônomos, que almejavam a compreensão dos espectros do sol e das estrelas e, assim, caracterizaram o uso dos espectros de absorção para a realização de análises químicas<sup>32</sup>.

Em 1878, Lockyer foi um dos escassos cientistas do período a demonstrar interesse pela utilização da absorção atômica em suas pesquisas. Ele desenvolveu um instrumento completo para a espectrometria com fonte contínua, em que foram estudados os espectros de emissão e absorção de metais. Este equipamento, ilustrado na Figura 6, era composto por: um

atomizador (A); um tubo de ferro, dentro de um forno alimentado por carvão (B); um dispositivo Kipp, utilizado para gerar hidrogênio e obter uma atmosfera redutora no atomizador (C); uma fonte de luz, que consistia em uma lâmpada elétrica de fonte contínua (D), e um espectrógrafo com um dispositivo fotográfico, para a obtenção dos espectros dos metais analisados (E) <sup>35-37, 46</sup>.

Figura 6 – Instrumento de Lockyer, sendo: (A) o atomizador; (B) o tubo de ferro; (C) dispositivo Kipp; (D) lâmpada elétrica e (E) espectrógrafo com dispositivo fotográfico



Fonte: Ref. 46

Entre os poucos trabalhos desenvolvidos com o uso dessa técnica espectroanalítica, os que mais se destacaram foram <sup>47</sup>:

- o realizado entre 1935 e 1937, por Paul, no qual foi descrito os espectros de absorção da prata, cério, manganês, neodímio e samário através do uso de diversas fontes contínuas testadas para diferentes intervalos de comprimentos de onda. As fontes contínuas utilizadas por Paul foram: lâmpada de filamento de tungstênio de alta potência para a região do visível, a de hidrogênio e outra de ânodo de arco de carbono para a região do ultravioleta;
- e o feito em 1952, por Garton, e em 1954, por Bovey e Garton, em que se examinou os espectros de absorção do cobre, gálio, lutécio e túlio com várias fontes de radiação e até mesmo uma lâmpada de arco de xenônio de alta pressão com radiação contínua.

Em 1952, Alan Walsh, foi considerado o primeiro grande entusiasta da absorção atômica com fonte contínua, sendo chamado de pai da AAS pela sua contribuição com a evolução da mesma. Este desenvolveu as lâmpadas de cátodo oco, e através destas concluiu que, para a absorção atômica, seria necessário o uso de fontes de radiação eletromagnéticas que emitissem linhas as mais estreitas possíveis, com uma resolução de 2 pm, o que era inviável para os monocromadores e detectores da época <sup>47</sup>.

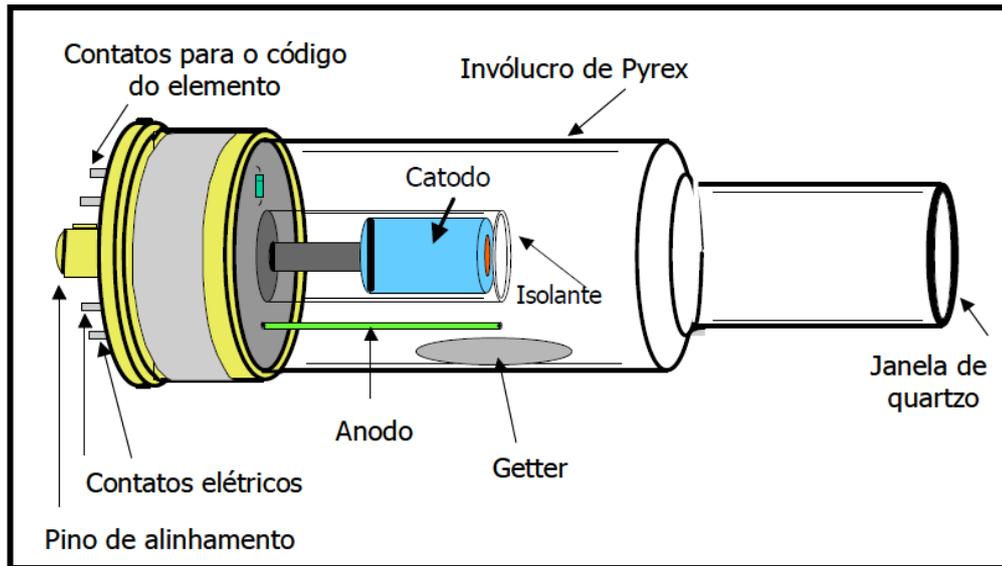
Essas afirmações de Walsh foram realizadas após o mesmo ter utilizado a AAS com uma fonte contínua na determinação de cobre, na qual os dados foram significativamente insatisfatórios devido à baixa sensibilidade analítica. Dessa forma, um monocromador, cuja função é selecionar o comprimento de onda de interesse para a análise, precisava necessariamente de alta resolução para medir a absorção da radiação vinda da fonte <sup>48</sup>.

A grande contribuição de Alan Walsh para o progresso das lâmpadas de cátodo oco (HCL - Hollow Cathode Lamps), que emitem radiações monocromáticas e específicas para cada elemento, foi o que fez com que a AAS passasse a ser utilizada nas análises de rotina. Isso porque as linhas de emissão das HCLs são mais estreitas que o perfil de absorção da espécie analisada e que o deslocamento óptico do monocromador, permitindo sensibilidade, alta seletividade, baixos sinais de ruídos e limites de detecção <sup>47, 48</sup>.

A HCL é formada por um tubo de vidro lacrado que contém um gás inerte, argônio ou neônio, à pressão de 1 a 5 torr. Em uma das extremidades estão: o cátodo (revestido ou confeccionado com o elemento que se deseja quantificar) e o ânodo (feito de um bastão de zircônio ou tungstênio). A outra extremidade é selada com uma janela de quartzo, transparente ao comprimento de onda de interesse <sup>49, 50</sup>.

O princípio de funcionamento dessa lâmpada consiste em uma descarga elétrica dentro do tubo, devido à diferença de potencial entre os eletrodos, provocada pela aplicação de uma tensão entre 150 e 400 volts. Essa tensão ocasiona a ionização do gás de enchimento. Os íons do gás nobre são formados e acelerados na direção do cátodo. Deste modo, uma parte dos átomos do elemento do cátodo conseguem a energia necessária para que ocorra a excitação, ou seja, a transição eletrônica. Como a excitação torna o átomo instável, ele apresenta tendência em devolver a energia absorvida em forma de luz para retornar ao seu estado fundamental, sendo que essa radiação eletromagnética recuperada possui comprimento de onda característico do elemento de que é feito o cátodo. A Figura 7 ilustra uma HCL e cada uma de suas partes, e a Figura 8, uma lâmpada de cátodo oco para a realização da determinação quantitativa do elemento chumbo <sup>49, 50, 51</sup>.

Figura 7 - HCL e cada uma das suas partes constituintes



Fonte: Cortesia da VARIAN <sup>51</sup>

Figura 8 - HCL específica para a quantificação do elemento chumbo



Fonte: Ref. 46

Essas lâmpadas já tinham sido sugeridas em 1916, por Paschen, entretanto, as mesmas possuíam dificuldades de operação e instabilidade devido à necessidade de contínuo bombeamento de uma atmosfera de argônio a 1 KPa. Com isso, Alan e seus pesquisadores desenvolveram as HCLs em tubos de vidros selados com janelas de quartzo, garantindo a ampla empregabilidade analítica dessas lâmpadas e eximindo os monocromadores de alta resolução, impossíveis naquela época <sup>42</sup>.

Passados dois anos, em 1954, Alan Walsh, com base nos experimentos de Kirchhoff e Bunsen, apresentou a Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS – Flame Atomic Absorption Spectrometry) para a determinação de metais <sup>42</sup>.

A FAAS, proposta por Walsh, possui vasta aplicação na quantificação de elementos metálicos. É considerada como uma técnica monoelementar, na qual o atomizador é uma chama de ar/acetileno ou N<sub>2</sub>O/acetileno. O analito é aspirado por um nebulizador e introduzido na chama, onde ocorrerem os fenômenos físico-químicos: dessolvatação, fusão, vaporização e dissociação. Dessa forma, a quantidade de luz absorvida é proporcional ao número de átomos, no estado gasoso, presentes na chama. E, a quantificação do elemento traço é dada em mg/L ou ppm <sup>52, 53</sup>.

Como os limites de detecção da FAAS eram ineficientes para a identificação de muitos analitos, Boris L'vov apresentou a Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS - Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry), que utiliza um tubo de grafite como atomizador e possui um limite de detecção bem menor do que o da FAAS, sendo da ordem de µg/L ou ppb <sup>54</sup>.

A GF AAS consiste na atomização eletrotérmica através da utilização de uma plataforma de L'Vov dentro de um tubo de grafite pirolítico, onde o aquecimento pode ser realizado transversalmente ou longitudinalmente. O analito é colocado em um auto-amostrador, que transfere uma pequena quantidade da amostra, algo entre 1 a 100 µL, para o tubo de grafite. Nessa técnica, três procedimentos de programação são realizados: a secagem para extração do solvente; a pirólise para decomposição da matriz e a atomização para conversão da espécie em átomos livres. Também foi na GF AAS em que se introduziu o conceito STPF (Stabilized Temperature Platform Furnace), que possibilita a eliminação de interferências através de acessórios, parâmetros instrumentais e procedimentos analíticos, como, por exemplo, a alta qualidade pirolítica dos tubos de grafite, o máximo poder de atomização e a correção de fundo com Efeito Zeeman <sup>54</sup>.

### **3.4 Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução**

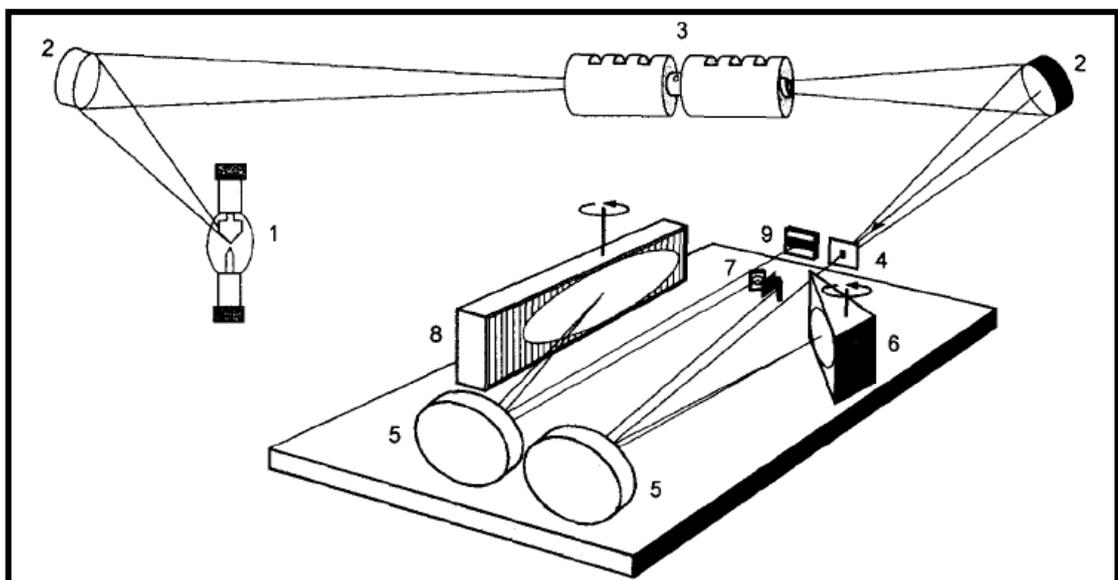
#### **3.4.1 *Constituintes instrumentais***

Por volta de 1996, Heitmann, Becker-Ross e colaboradores propuseram a Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (HR-CS AAS – High-resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry), uma nova definição

para a AAS, reestabelecendo o uso de fontes contínuas de radiação, o que exigiu adaptações instrumentais. Para tanto, o equipamento projetado, ilustrado na Figura 9, era constituído por 42, 44, 55 - 57.;

- uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta pressão e intensidade;
- espelhos elipsoidais focalizadores, que garantem que o feixe de radiação da lâmpada esteja incidindo no centro do atomizador e na fenda de entrada do monocromador;
- atomizador, que poderá ser chama ou forno de grafite;
- um Monocromador Duplo de Alta Resolução (DEMON – Double-Echelle Monochromator) para fornecer a alta resolução do intervalo espectral selecionado;
- um prisma, que exerce a função de selecionar parte do espectro de interesse;
- uma fenda intermediária, que contém uma lâmpada de neônio posicionada em frente a esta fenda e lança várias linhas estreitas;
- uma rede echelle, que separa as linhas emitidas pela fenda intermediária;
- e por fim, um Dispositivo de Carga Acoplada (CCD - Charge-coupled Device), cuja função é detectar a radiação emitida e transmitida depois do processo de separação.

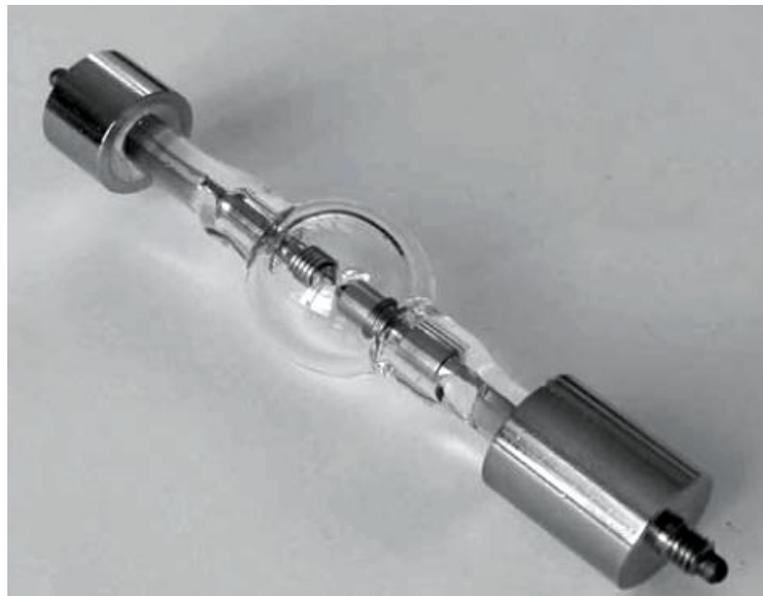
Figura 9 - Representação esquemática de um espectrômetro de HR-CS AAS, onde: (1) lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais focalizadores, (3) atomizador, (4) fenda de entrada, (5) espelhos parabolóides, (6) prisma, (7) fenda intermediária ajustável, (8) rede echelle e (9) detector CCD



Fonte: Ref. 44

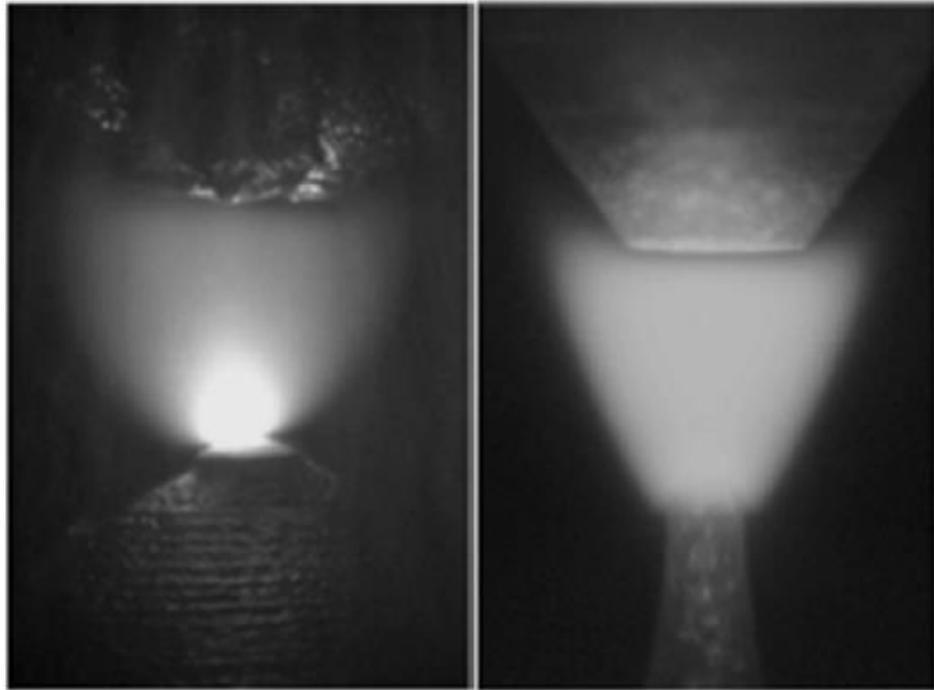
O funcionamento básico desse novo instrumento acontece do seguinte modo: a lâmpada de arco curto de xenônio de alta pressão (15 bar quando fria), Figura 10, com 300 W de potência e dois eletrodos de tungstênio com uma distância de 1 mm entre si, opera no modo hot spot, Figura 11, o qual permite que temperaturas da ordem de 10.000 K sejam alcançadas, ocasionando a formação de um plasma muito pequeno, próximo do cátodo e emitindo radiação contínua entre 150 e 900 nm. As altas temperaturas atingidas aumentam a intensidade da radiação proveniente da lâmpada em cerca de 1 a 3 ordens de grandeza, principalmente na região do ultravioleta. Assim, mesmo que os arcos dessa fonte sejam instáveis, esse impasse é resolvido com a correção do posicionamento, por sistema computacional, que movimenta um espelho para que o feixe da radiação esteja sempre incidindo no centro do atomizador<sup>41, 48</sup>.

Figura 10 - Lâmpada de arco curto de xenônio, empregada no novo conceito da AAS, a HR - CS AAS



Fonte: Ref. 44

Figura 11 - Lâmpada de arco curto de xenônio funcionando, na esquerda sem o modo hot spot e na direita com o modo hot spot



Fonte: Ref. 44

Após passar pelo atomizador, a radiação será focalizada na fenda de entrada pelos espelhos elipsoidais focalizadores e, assim, direcionada ao monocromador DEMON. Neste monocromador duplo de alta resolução, a luz incide em um prisma e em uma rede de difração echelle, em arranjo Littrow, onde a rotação adequada dos mesmos, em posições pré-ajustadas por motores de passos, possibilita a seleção do comprimento de onda desejado para a análise. O comprimento de onda é estabilizado por meio de uma lâmpada de neônio, com feixe posicionado em frente à fenda intermediária. Assim, as linhas de neônio são resolvidas pela rede echelle e incidem sobre os pixels do detector. A linha incidente no pixel é conferida, pelo software do detector, quanto ao pixel correto para o intervalo espectral especificado. Sempre haverá, para cada posição de rede, uma linha de neônio que irá atingir o detector, uma vez que estas são separadas pela rede echelle em várias ordens sobrepostas<sup>44, 55</sup>.

Após estes processos, a radiação chega ao detector, ou seja, a radiação que já foi emitida e transmitida atinge o CCD. Este é formado por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada, sensível na região do ultravioleta, com 512 detectores independentes, os pixels, dentre os quais 200 são utilizados para as análises, pois suas intensidades de radiação são transformadas em valores de absorbância. Isto garante que o ambiente espectral, a  $\pm 200$  pm ao redor da linha analítica na região do ultravioleta e,  $\pm 500$  pm na região do visível do

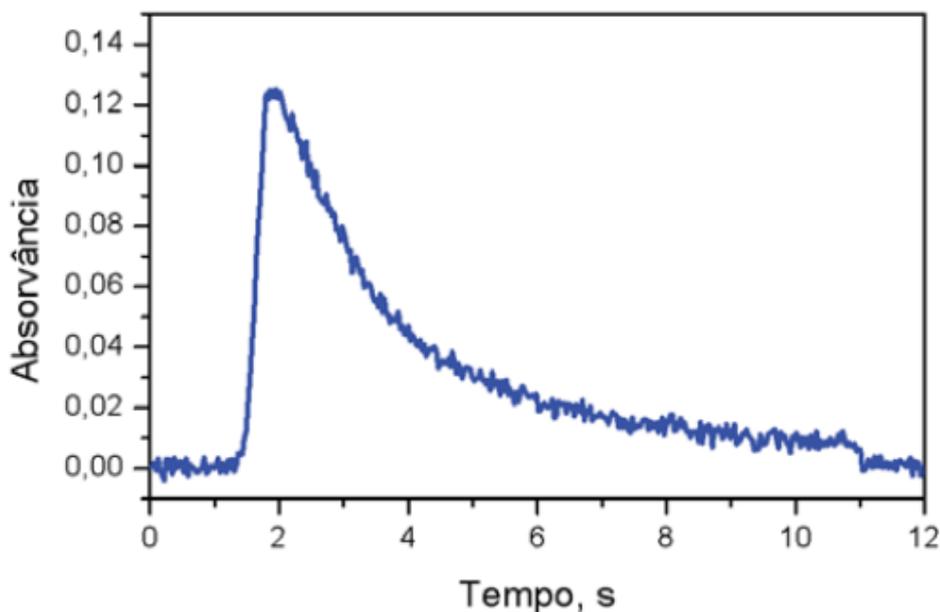
espectro, forneça informações que eram antes inacessíveis com os equipamentos disponíveis<sup>44</sup>.

Então, a HR-CS AAS, a partir de sua configuração e componentes instrumentais, permite avaliar de forma tridimensional o fenômeno que ocorre no atomizador, bem como os dados alcançados que podem ser dispostos em absorvância versus tempo e absorvância integrada versus comprimento de onda<sup>58-60</sup>.

No caso de os valores serem colocados em absorvância versus tempo, o que se consegue interpretar é o sinal transiente tradicional, Figura 12, ou seja, aquele sinal que surge devido a uma variação repentina da onda eletromagnética que chega ao detector. Já com a absorvância integrada versus o comprimento de onda, é observável qualquer absorção da radiação eletromagnética que aconteceu dentro do intervalo espectral selecionado para a análise, Figura 13<sup>44</sup>.

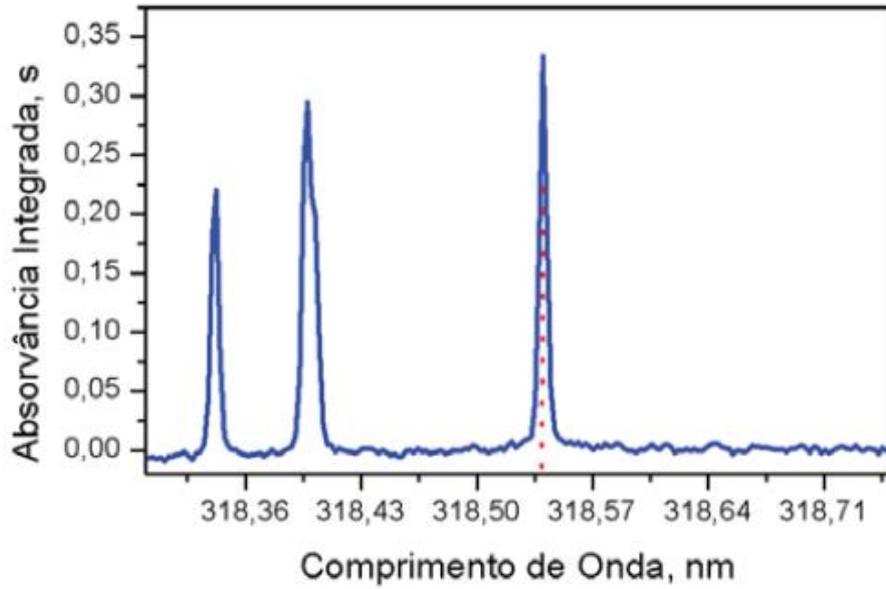
Quando se plota os valores resultantes da análise em absorvância como função do comprimento de onda e do tempo, Figura 14, a exibição ocorrerá de forma tridimensional, o que é de significativa relevância para o desenvolvimento de métodos para detectar e impedir interferências espectrais. Isso tudo é conseguido, pois o CCD acrescenta o comprimento de onda como uma nova grandeza para a mensuração da absorvância transiente ou integrada<sup>44, 61</sup>.

Figura 12 - Absorvância versus tempo como uma forma de disposição dos dados obtidos com a HR-CS AAS, no pixel central 318,540 nm de uma solução aquosa de vanádio



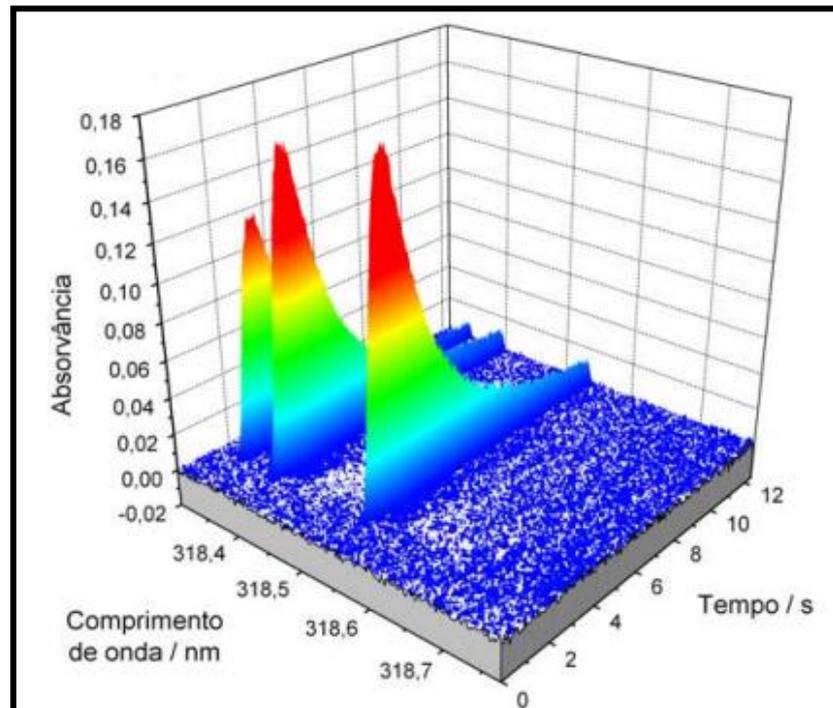
Fonte: Ref. 44

Figura 13 - Valores alcançados com a HR-CS AAS e organizados em absorvância integrada versus comprimento de onda, sendo que a linha pontilhada em vermelho corresponde ao pixel central em 318,540 nm



Fonte: Ref. 44

Figura 14 - Triplete de absorção (318,397; 318,341 e 318,540 nm) de uma solução aquosa de vanádio apresentados de forma tridimensional



Fonte: Ref. 44

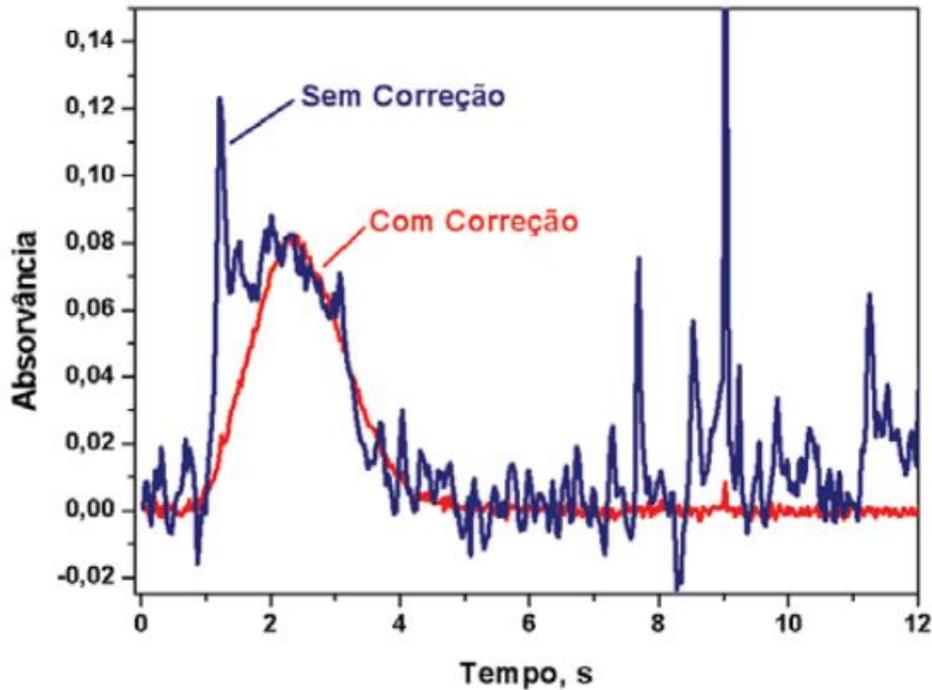
Nesta nova visão conceitual também foi salientada a importância de se selecionar uma quantidade maior do número de pixels para as quantificações, uma vez que a adição de pixels individuais melhora a qualidade da imagem e não afeta a linearidade da calibração. Uma melhor razão sinal/ruído é conseguida com a adição de 3 a 5 pixels em multipletos de absorbância, como acontece para o molibdênio e para o vanádio, o que acarretaria assim, uma imagem mais nítida de cada pico <sup>60</sup>.

Os eventos que podem vir a atingir os pixels do detector são corrigidos pelo software presente no mesmo. Este software, então, repara os eventos contínuos, o que possibilita, em associação com a alta intensidade de emissão da fonte contínua, a não necessidade de modulação da radiação proveniente do atomizador, já que essa luz é um evento contínuo e, dessa forma, estes eventos podem ser solucionados por este recurso do detector <sup>42</sup>.

O detector CCD presente na HR-CS AAS, diferentemente da LS AAS (Line Source Atomic Absorption Spectrometry), emprega o feixe duplo simultâneo, assim, os 200 pixels usados com a finalidade de análise podem ser declarados como detectores independentes. Mesmo os pixels sendo iluminados pela mesma fonte de radiação e reconhecidos de modo simultâneo, somente de 1 a 5 serão utilizados para proporcionar valores de absorção atômica. Isso permite que outros pixels ou conjuntos destes, cuja seleção é feita automaticamente pelo software ou manualmente, possam ser separados para consertar efeitos como flutuações de intensidade da lâmpada, já que estas flutuações atingem todos os pixels igualmente. Como os pixels são iluminados e reconhecidos simultaneamente, até mesmo as mudanças mais rápidas na intensidade de emissão serão reparadas <sup>42</sup>.

As flutuações de intensidade da lâmpada ocasionam ruídos em acentuada quantidade no espectro resultante do processo analítico. Então, essa peculiaridade de reparo desse evento contínuo possibilita uma significativa razão sinal/ruído. A Figura 15 ilustra essa melhora do sinal em relação ao ruído a partir do reparo do software, onde a linha azul (sinal sem correção) apresenta elevado nível de ruído, e a linha vermelha (com correção), onde o sinal é bastante estável. Outra vantagem do feixe duplo simultâneo é que este possui a habilidade para também solucionar qualquer mudança temporal na transmissão da radiação, tendo como um exemplo os gases da chama <sup>44</sup>.

Figura 15 - Efeito da correção para eventos contínuos do software presente no detector CCD da absorvância em função do tempo, no pixel central 228,802



Fonte: Ref. 44

### 3.4.2 Características que garantem a excelência analítica da HR-CS AAS

Entre as inúmeras vantagens que permitem a este novo conceito da AAS uma excelência no que refere a qualidade analítica, quando comparada as demais técnicas analíticas, as principais são <sup>44, 64, 65</sup>:

- emprego de apenas uma fonte de radiação para todos os elementos de interesse analítico;
- habilidade de correção de flutuações de intensidade da lâmpada e na transmissão da radiação, sem prejudicar a razão sinal/ruído, devido ao sistema de feixe duplo simultâneo;
- possibilidade de determinações multielementares, no caso de se utilizar detector bidimensional apropriado;
- benefício da razão sinal/ruído com a lâmpada de arco curto de xen, pela sua alta intensidade de emissão;

- uniformidade de intensidade nas diferentes regiões do espectro UV-Vis, já que, como se utiliza uma fonte de radiação contínua, não existem linhas fracas;
- possibilidade de obtenção de informações sobre a estrutura de fundo e de toda a região espectral na vizinhança da linha analítica;
- reparação simultânea do fundo nas proximidades da linha analítica;
- possibilidade da escolha de pixels de referência, bem como da definição de limites de integração, graças ao software que permite o processamento total após a leitura dos dados;
- sistema de correção de fundo com base em um algoritmo de mínimos quadrados, em que os espectros de referência de absorção de fundo armazenados são subtraídos do espectro da amostra através desse sistema algorítmico;
- possibilidade de solução de problemas como a absorção molecular e outros fenômenos de banda larga e a emissão dos atomizados, bem como de correção automática de todos os eventos contínuos;
- variação de até cinco ordens de magnitude na faixa de calibração;
- elevado desempenho nas análises de quantificação de elementos traço em amostras complexas;
- maior benefício com o equipamento de fonte contínua, o ContrAA 300 (produzido pela Analytik Jena AG), quando comparada à espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

### ***3.4.3 Aplicações da HR-CS AAS***

Com a HR-CS AAS é possível a determinação de metais de transição, que também se consegue quantificar com AAS convencional, porém, novos elementos e elementos de difícil determinação, como fósforo e enxofre, só são identificados com esta nova configuração instrumental <sup>29</sup>. A Tabela 1 apresenta algumas das principais pesquisas em que se utilizaram a HR-CS AAS com atomização de forno de grafite e atomização com chama.

Tabela 1 - Principais pesquisas realizadas com o emprego da HR-CS AAS com atomização em forno de grafite (HR-CS GF AAS) e em chama (HR-CS FAAS), desde o início até os dias atuais

<b>Ano</b>	<b>Tipo de atomizador</b>	<b>Preparo de amostra</b>	<b>Referências</b>
<b>2002</b>	HR-CS GF AAS	A amostragem sólida e a amostragem em suspensão de materiais de referências de sedimentos marinhos foram aplicadas na investigação das interferências encontradas na determinação de tálio. Para tanto, foi utilizado o nitrato de amônio como modificador químico, e rutênio com nitrato de amônio como modificador permanente.	66
<b>2004</b>	HR-CS GF AAS	Foi feita a quantificação de tálio em carvão, utilizando amostragem direta de sólidos, com paládio como modificador químico e rutênio como modificador permanente.	67
<b>2004</b>	HR-CS GF AAS	Desenvolvimento de um procedimento de rotina para a determinação de níquel em petróleo bruto, com o mínimo de preparação da amostra, através de amostragem por emulsão e paládio como modificador químico.	68
<b>2005</b>	HR-CS GF AAS	Foi analisada a presença de cobalto em amostras biológicas utilizando dois métodos: a amostragem de sólidos e o tratamento alcalino com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). E para a	69

---

		obtenção da melhor condição, a LS AAS foi comparada com HR-CS AAS.	
2006	HR-CS GF AAS	Investigação de modificadores químicos, como paládio e fluoreto de sódio, capazes de permitir a quantificação de fósforo.	70
2006	HR-CS GF AAS	Com o paládio como modificador químico, foi realizada análise para a determinação de compostos voláteis e não-voláteis do vanádio em óleos brutos brasileiros.	71
2006	HR-CS GF AAS	Írídio e rutênio sozinhos, como também combinados com tungstênio, foram utilizados como modificadores permanentes para o estudo da viabilidade na identificação de cádmio em carvão.	72
2007	HR-CS GF AAS	Investigação das interferências espectrais e não espectrais presentes em um equipamento com absorção atômica com fonte de linha convencional, com a qualidade analítica da HR-CS AAS, para a quantificação de alumínio em produtos farmacêuticos que possuem elevada concentração de ferro e açúcar.	73
2009	HR-CS GF AAS	Verificação da possibilidade de determinação direta e simultânea de cromo e ferro em petróleo bruto, com relação à necessidade ou não de preparo da amostra.	74

---

---

<b>2010</b>	HR-CS GF AAS	Investigação sobre a viabilidade de se usar correção de fundo por efeito Zeeman para a determinação de fósforo, com a utilização de fluoreto de sódio e paládio como modificadores.	75
<b>2010</b>	HR-CS GF AAS	Determinação simultânea de cádmio e ferro em lodo de esgoto utilizando amostragem em suspensão.	76
<b>2011</b>	HR-CS GF AAS	Estudo de métodos para a determinação de cádmio em amostras de fertilizantes, através do uso de amostragem em suspensão, e de irídio como modificador permanente, bem como paládio e a mistura de paládio e magnésio como modificadores químicos.	77
<b>2011</b>	HR-CS GF AAS	Quantificação de mercúrio em material atmosférico particulado coletado em filtros de fibra de vidro, utilizando amostragem direta de sólidos.	78
<b>2012</b>	HR-CS GF AAS	Análise para a determinação de cádmio em amostras de plantas medicinais a partir da amostragem direta de sólidos. Foram utilizados di-hidrogenofosfato de amônio e nitrato de magnésio como modificadores químicos. A possibilidade de utilização de calibração com padrões aquosos também foi avaliada.	79

---

---

2012	HR-CS GF AAS	<p>Foram pesquisadas as condições ótimas para a determinação de chumbo, que é tóxico ao organismo humano, em plantas medicinais, utilizou-se a amostragem direta de sólidos e nitrato de paládio, di-hidrogenofosfato de amônio, nitrato de magnésio e nitrato de paládio e magnésio como modificadores químicos, bem como tungstênio como modificador permanente.</p>	80
2013	HR-CS GF AAS	<p>Determinação direta de bromo em materiais plásticos por meio de amostragem direta de sólidos, com paládio com modificador químico.</p>	81
2013	HR-CS GF AAS	<p>Pesquisa do conteúdo de chumbo em batons por amostragem direta de sólidos. Os resultados, bem como as vantagens e desvantagens do procedimento, foram comparados com os de digestão assistida por micro-ondas.</p>	82
2014	HR-CS GF AAS	<p>Paládio, platina e ródio foram quantificados em catalisadores de automóveis usados e em ingredientes farmacêuticos ativos por meio de amostragem direta de sólidos.</p>	83
2014	HR-CS GF AAS	<p>Estudo de interferências espectrais na determinação de chumbo em amostras de fertilizantes e calcário empregando amostragem em suspensão, paládio e magnésio</p>	84

---

---

		como modificadores químicos.	
2014	HR-CS FAAS	Desenvolvimento de um método simples e adequado para a determinação de enxofre em alimentos e bebidas.	85
2015	HR-CS GF AAS	Com o intuito de verificar se os elementos tóxicos chumbo, cádmio, cromo, cobre e níquel estavam dentro dos limites aceitáveis para o consumo, foram analisadas 25 amostras de chás provenientes da China empregando o procedimento de digestão por via úmida como método de preparo do material de estudo.	86
2015	HR-CS GF AAS	Determinação por amostragem direta de sólido, e com nitrato de magnésio como modificador químico de cromo, em formulas infantis que substituem o leite materno.	87
2015	HR-CS FAAS	Quantificação sequencial rápida multi-elementar dos 11 elementos cobre, zinco, cádmio, níquel, chumbo, manganês, ferro, cálcio, sódio, potássio e magnésio, em amostras de água.	88

---

Fonte: Autor

### 3.5 Amostragem direta de sólidos

A amostragem direta de sólidos (DSS – Direct Solid Sampling) fundamenta-se na inserção de reduzidas massas do material de estudo no sistema de introdução de amostras do equipamento, correspondente a técnica selecionada para a realização das medidas. Essa

inserção pode ser tanto pela amostragem direta do material pulverizado, quanto por amostragem em suspensão (SiS - Slurry Sampling) <sup>89,90</sup>.

Esse método de introdução de amostras é significativamente antigo, uma vez que surgiu por volta de 1957, quando Boris L' Vov testou, através da análise elementar, uma amostra sólida de cloreto de sódio no tubo de grafite que havia proposto como atomizador para a GF AAS. Contudo, o modelo de tubo apresentado por Massman foi mais bem aceito pelos fabricantes dos equipamentos devido a sua simplicidade, o que acabou deixando a amostragem direta de sólidos esquecida por algum tempo <sup>89</sup>.

Com o passar dos anos, em meados da década de 80, o aparecimento dos fornos de grafite com aquecimento transversal, bem como da utilização de corretores de radiação de interferências de fundo fundamentados no efeito Zeeman, impeliram o emprego da DSS no meio analítico. Esse sistema de correção de radiação de fundo, baseada no efeito Zeeman é mais efetivo do que aqueles com lâmpada de deutério, o que foi fundamental na época, para a DSS, pois devido a não diluição das amostras, os componentes da matriz ficam mais concentrados, ocasionando sinais de fundo muito intensos <sup>89,90</sup>.

Progressos no que diz respeito a melhorias na técnica foram sendo efetivados e, nos dias atuais, está disponível para comércio um espectrômetro de HR-CS GF AAS hábil para operar no modo convencional, em que as amostras podem ser introduzidas tanto na forma de soluções como na forma direta de sólido. Esse equipamento é formado por um par de pinças ajustadas para o transporte da plataforma de grafite do tipo “boat” (barquinha), tanto para o atomizador como para a balança, sendo que o material de estudo é diretamente introduzido nessa plataforma, e as conduções são feitas por meio de um braço mecânico <sup>91,92</sup>.

A amostragem direta de sólidos também é utilizado em outras técnicas analíticas, tais como: Espectrometria de emissão com plasma induzido por laser (LIBS - Laser-induced Breakdown Spectroscopy), Espectrometria de massa por ionização acoplada por plasma com ablação a laser (LA ICP-MS - Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), Espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente com ablação a laser (LA ICP-OES - Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) e vaporização eletrotérmica acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ETV ICP-MS - Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Porém, são as características da DSS HR-CS GF AAS que garantem a sua excelência analítica. São elas <sup>90-94</sup>:

- boa seletividade e sensibilidade; possibilidade de otimização do programa de aquecimento combinado com o uso de modificadores químicos, o que na maioria dos casos permitirá calibração com padrões aquosos;
- as dificuldades relacionadas ao transporte do material de estudo são diminuídas, já que os sólidos são pesados diretamente na plataforma de grafite que, após a pesagem, é levada até o atomizador;
- as interferências que ocorrem na atomização são solucionadas, uma vez que o programa de aquecimento otimizado possibilita o pré-tratamento térmico do material, o que remove os concomitantes da matriz;
- necessita-se de pouca coleta de material, pois pequenas massas de amostras podem ser utilizadas, podendo variar de 0,01 a 10 mg.

Mesmo com esses inúmeros benefícios pertinentes a essa técnica, algumas dificuldades podem surgir durante o procedimento de análise, de acordo com o analito que está sendo analisado, mas as mesmas são solucionáveis, sendo algumas delas <sup>90,95</sup>:

- problemas com a representatividade dos analitos presentes em nível traço, já que são utilizadas massas muito reduzidas da amostra, inferiores a 100 mg . Isso porque os analitos podem não estar homogeneamente distribuídos no material de pesquisa;
- com relação aos estudos de calibração, onde são empregues os materiais de referência certificados (CRMs), muitos desses materiais não são certificados para todos os analitos de interesse;
- outro empecilho é que a maioria dos CRMs apresenta concentração do elemento desejado em concentrações maiores do que as detectáveis com a DSS HR-CS GF AAS. Diante disso, um caminho seria o uso de soluções padrão combinadas com as condições STPF para que as interferências não-espectrais pudessem ser monitoradas e, assim, o sinal obtido pela amostra sólida poderia ser comparado com o sinal produzido a partir de uma solução padrão.

Logo, são inúmeras as vantagens inerentes à DSS quando ela é comparada aos métodos convencionais de introdução de amostras. Esta amostragem possibilita a diminuição do tempo gasto nas análises, uma vez que as amostras dispensam o pré-tratamento, sendo realizada apenas a moagem; possibilita reduzido risco de contaminação da amostra, de perda de analito, de uso de reagentes e menor geração de resíduos. Além disso, permite análises de massas de amostras da ordem de 1 mg e uma maior detectabilidade devido a não diluição <sup>90</sup>.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Instrumentação

Para o procedimento de liofilização, utilizou-se o liofilizador LS3000, da TERRONI<sup>®</sup> – Equipamentos Científicos, concedido pelo Professor Dr. Paulo Cezar Ceresini, do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos – DEFERS, de Ilha Solteira – SP.

No caso da homogeneização do material de interesse, empregou-se um moinho criogênico SPEX 6800, que contém como acessórios os tubos de policarbonato, onde as amostras são colocadas, e a barra magnética de aço inoxidável.

Após a moagem criogênica, todas as amostras das conchas do mexilhão dourado foram para a estufa de secagem com circulação e renovação de ar, TE - 394/2 (TECNAL), para controle de umidade.

Nas determinações de chumbo e cádmio por amostragem direta de sólidos, foi usado um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, o ContrAA 700 (AnalytikJena<sup>®</sup>, Germany), provido de uma lâmpada de arco curto de xenônio de 300 W (XBO 301, GLE<sup>®</sup>, Germany), operando em modo "*hot spot*" com emissão de radiação de 190 a 900 nm; um monocromador DEMON, formado por um prisma e uma rede de difração echelle, em arranjo Littrow, que possibilita alta resolução (aproximadamente 2,0 pm por pixel); um detector de carga acoplada (CCD) e um auto amostrador de sólidos, o SSA 600.

A quantificação dos analitos chumbo e cádmio foi inteiramente desenvolvida com o emprego de tubos de grafite pirolítico, específicos para a amostragem sólida e, por isso, sem orifício de injeção. A introdução das amostras no forno foi realizada por meio de um par de pinças pré-ajustado, que faz parte do auto amostrador SSA 600. Antes de realizar a introdução das amostras, com o auxílio do auto amostrador, as mesmas foram pesadas em uma microbalança da Sartorius WZ2PW (Göttingen, Germany), com precisão de 0,001 mg. As soluções aquosas de modificador químico e as soluções de calibração foram injetadas manualmente na plataforma SSA 600 utilizando uma micropipeta (Eppendorf<sup>®</sup>, Brasil). E, como gás de purga e proteção, utilizou-se argônio com pureza de 99,996 % (White Martins, São Paulo).

No caso das determinações de alumínio, ferro e manganês, foi utilizado o espectrômetro de absorção atômica de alta-resolução com fonte contínua e atomização com chama, o ContrAA 300 (AnalytikJena<sup>®</sup>, Germany), também composto de uma lâmpada de

arco curto de xenônio de 300 W (XBO 301, GLE<sup>®</sup>, Germany), com emissão contínua de radiação de 190 a 900 nm.

Para essas determinações (alumínio, ferro, manganês), foi preciso realizar a digestão por via úmida do material de estudo, uma vez que a amostra precisa ser compatível com o sistema de introdução de amostras do equipamento – neste caso, com o nebulizador pneumático. Deste modo, foi utilizado o forno de micro-ondas da Multiwave Anton Paar<sup>®</sup>, constituído de um rotor de seis posições e de frascos de quartzo.

As massas de amostras para a etapa de digestão por via úmida foram pesadas em uma balança analítica da marca HEXIS, que possui precisão de quatro casas decimais.

## 4.2 Amostras

As amostras de mexilhão dourado foram coletadas no rio São José dos Dourados, situado na cidade de Ilha Solteira, interior do estado de São Paulo (latitude 20° 25' 58" e longitude -51° 20' 33") <sup>96</sup>. Os mexilhões foram recolhidos de uma boia localizada bem próxima à margem, e de um taque rede de piscicultura, a aproximadamente 7 metros do primeiro ponto. Então, foram dispostos em sacos plásticos, etiquetados e submetidos à refrigeração.

Em seguida, foi realizada a separação de um total de 160 amostras da parte interna, o tecido do mexilhão, e de 160 pares de valvas (conchas) para cada um dos dois pontos de coleta. Metade de cada uma dessas divisões passou pelo processo de lavagem com água deionizada, para verificar se esse procedimento diminuiria a concentração dos analitos pesquisados.

Todo o material separado foi colocado em tubos falcon, etiquetados com as seguintes iniciais e respectivos significados:

- **MIFL** – Mexilhão Dourado, Parte Interna do Fundo Lavado
- **MIFS** – Mexilhão Dourado, Parte Interna do Fundo Sem Lavagem
- **MIML** – Mexilhão Dourado, Parte Interna da Margem Lavado
- **MIMS** – Mexilhão Dourado, Parte Interna da Margem Sem Lavagem
- **MCMS** - Mexilhão Dourado, Concha da Margem Sem Lavagem
- **MCML** – Mexilhão Dourado, Concha da Margem Lavado
- **MCFL** – Mexilhão Dourado, Concha do Fundo Lavado
- **MCFS** – Mexilhão Dourado, Concha do Fundo sem Lavagem

Os frascos contendo os tecidos de mexilhão foram congelados por 24 horas e, posteriormente, submetidos ao processo de liofilização por 120 horas. Já os tubos com as conchas permaneceram na refrigeração inicial.

Após a conclusão desta etapa, todo o material de estudo foi devidamente transportado para o Instituto de Química da Unesp, em Araraquara – SP, onde foi desenvolvida toda a parte experimental deste trabalho, com o amparo dos membros do GEA (Grupo de Espectroanalítica e Automação de Araraquara), coordenado pelo Professor Dr. José Anchieta Gomes Neto.

Com o intuito de garantir a homogeneidade das amostras, tanto com a HR-CS GF AAS como para as digestões que antecedem as análises com HR-CS FAAS, foi realizada a moagem criogênica das mesmas. O programa de moagem utilizado está exposto na Tabela 2.

Tabela 2 - Programa de moagem criogênica otimizado empregado nas amostras de mexilhão dourado

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>
<b>Pré-congelamento</b>	2,0
<b>Moagem <sup>a,b</sup></b>	3,0
<b>Congelamento entre as moagens</b>	2,0

<sup>a</sup> 2 ciclos por moagem para a parte interna

<sup>b</sup> 4 ciclos por moagem para as valvas

Fonte: Autor

Após a moagem, a parte interna já estava pronta para as análises com DSS HR-CS GF AAS e para as digestões por via úmida. Já as amostras das conchas precisaram ir para a estufa de circulação forçada de ar aquecido a 70 °C por 24 horas, período necessário para a obtenção de massa constante e, deste modo, ficarem aptas às análises e aos demais procedimentos de preparo de amostras.

#### **4.3 Reagentes e soluções**

Todas as soluções e lavagens foram executadas com água deionizada (resistividade de 18,2 MΩ/cm), proveniente do sistema de osmose reversa Millipore Rios 5<sup>®</sup>.

Os materiais volumétricos, vidrarias e frascos ocupados para a execução dos experimentos foram imersos em banho 10% (v/v) ácido nítrico por 24 horas e lavados posteriormente com água deionizada, antes do uso.

Ácido nítrico 70% (v/v) (J.T. Baker) e peróxido de hidrogênio 30% (v/v) (Merck) foram utilizados na digestão por via úmida para as quantificações por atomização com chama.

Ácido nítrico Suprapur (Merck) foi usado no preparo de todas as soluções analíticas para a determinação por DSS HR-CS GF AAS.

Solução contendo 0,1% (m/v) Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 0,05% (m/v) Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em presença de 0,05% (m/v) de Triton X-100, da qual foi utilizada uma alíquota de 5 µL como modificador químico.

Soluções padrão de chumbo, cádmio, alumínio, ferro e manganês foram preparadas por meio de diluições apropriadas de soluções estoque de 1000 mg/L (SpecSol®, São Paulo, Brasil).

Os CRMs tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e tecido de ostra (Oyster Tissue - 1566b) do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST - National Institute of Standards and Technology), (Gaithersburg, MD, USA) e fígado de lagosta sem remoção da gordura (LUTS-1: Non defatted lobster hepatopancreas), do Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá (NRCC - National Research Council of Canada), foram utilizados para verificar a precisão das medidas e, dessa forma, validar o método proposto.

#### **4.4 Preparo das amostras para a atomização com chama**

Os procedimentos de digestão foram executados através de decomposição por via úmida assistida por micro-ondas. Para tanto, foi utilizado como embasamento o método EPA 3052 <sup>97</sup>. Assim, foram empregados como reagentes, ácido nítrico combinado com peróxido de hidrogênio e água, pois o ácido nítrico é um dos agentes oxidantes mais usados na digestão por via úmida de amostras orgânicas. O peróxido de hidrogênio aumenta o poder de oxidação do ácido nítrico e a água regenera o ácido nítrico, além de auxiliar no impedimento de picos de temperatura, provenientes das reações exotérmicas <sup>98,99</sup>.

As digestões foram iniciadas com a parte interna do mexilhão dourado. Para tanto, foram pesadas cerca de 0,200 g das amostras da parte interna que, em seguida, foram depositadas nos fracos de quartzo e, posteriormente, acrescentou-se 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O. Os fracos foram fechados adequadamente e submetidos ao programa de aquecimento otimizado e disponibilizado pelo equipamento (Tabela 3).

Tabela 3 - Primeiro programa de aquecimento utilizado para a decomposição por via úmida das amostras da parte interna do mexilhão dourado, em que a temperatura máxima foi de 300 °C

<b>Etapa</b>	<b>Potência inicial (W)</b>	<b>Potência final (W)</b>	<b>Tempo de aquecimento (min)</b>
<b>1</b>	100	600	5
<b>2</b>	600	600	5
<b>3</b>	1000	1000	10
<b>4</b>	0	0	15

Fonte: Autor

Porém, esse programa de aquecimento não foi eficiente para a digestão completa das amostras, uma vez que foi observado material particulado no fundo nos tubos de quartzo, que permaneceu mesmo após a transferência das amostras para os tubos falcon e diluição até 50 mL.

Diante disso, foi realizada uma nova digestão para a parte interna, dessa vez aumentando a quantidade de água e o tempo de aquecimento. Então, foram pesadas massas de amostra da parte interna de aproximadamente 0,150 g (reduziu-se as massas para economizar as amostras), que foram depositadas nos frascos digestores do forno de micro-ondas, e então adicionaram-se alíquotas de 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 2,0 mL de H<sub>2</sub>O. Os tubos foram devidamente fechados, colocados no rotor e submetidos a outro programa de aquecimento já otimizado e concedido pelo instrumento e com um tempo de aquecimento maior do que o anteriormente utilizado (Tabela 4).

Tabela 4 - Programa de aquecimento do forno de micro-ondas para as amostras da parte interna, em que a temperatura máxima atingida foi de 280 °C

<b>Etapa</b>	<b>Potência inicial (W)</b>	<b>Potência final (W)</b>	<b>Tempo de aquecimento (min)</b>
<b>1</b>	0	900	15
<b>2</b>	900	900	30
<b>3</b>	0	0	20

Fonte: Autor

No caso das conchas, foram pesadas massas de aproximadamente 0,200 g, que foram transferidas para os frascos digestores de quartzo. Sucessivamente, se adicionou alíquotas de 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O. Então, os frascos foram corretamente fechados, acomodados no rotor e submetidos ao programa de aquecimento já otimizado e disponibilizado pelo equipamento (Tabela 5).

Tabela 5 - Programa de aquecimento do forno de micro-ondas para as amostras de concha, em que a temperatura máxima atingida foi de 300 °C

<b>Etapa</b>	<b>Potência inicial (W)</b>	<b>Potência final (W)</b>	<b>Tempo de aquecimento (min)</b>
<b>1</b>	500	1000	10
<b>2</b>	1000	1000	20
<b>3</b>	0	0	15

Fonte: Autor

Logo após o término do programa de aquecimento, os frascos foram retirados do rotor, abertos, e o produto digerido foi transferido para tubos falcon. Esses tubos foram avolumados com água deionizada até 50 mL, para o produto das digestões das conchas, e até 25 mL, para o digerido das partes internas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Otimização dos programas de aquecimento para atomização em forno de grafite empregando amostragem direta de sólidos

Essa é considerada uma das etapas de maior relevância para a atomização com forno de grafite, principalmente quando se faz uso da amostragem direta de sólidos, uma vez que as amostras são integralmente depositadas no atomizador, o que pode ocasionar interferências químicas e espectrais advindas da matriz. Logo, otimizar um programa de aquecimento significa estabelecer as melhores temperaturas de secagem, pirólise, atomização e limpeza, através do uso ou não de modificadores químicos, para garantir a exatidão e a reprodutibilidade das medidas <sup>87, 100</sup>.

O estudo dos comportamentos térmicos dos analitos chumbo e cádmio em material sólido (mexilhão dourado) foi iniciado com as otimizações de temperaturas de pirólise ( $T_p$ ) e atomização ( $T_a$ ) para cada um dos elementos, buscando encontrar uma condição de compromisso que fosse comum para a concha e a parte interna.

Para a seleção das temperaturas de compromisso, foram construídas as curvas de pirólise e atomização a partir da medida do sinal de absorbância com a variação crescente da temperatura, tanto para as amostras de estudo como para a solução padrão. Isso porque almejou-se estabelecer uma condição que permitisse a DSS com calibração aquosa, a partir de uma solução padrão <sup>87</sup>.

No caso das medidas desenvolvidas com material sólido, para as otimizações de temperaturas de pirólise e de atomização foi empregada a absorbância normalizada ( $s \cdot mg^{-1}$ ), ou seja, a razão entre a absorbância ( $s$ ) e a massa de amostra ( $mg$ ), devido ao obstáculo de se conseguir pesar massas significativamente próximas <sup>42, 87</sup>.

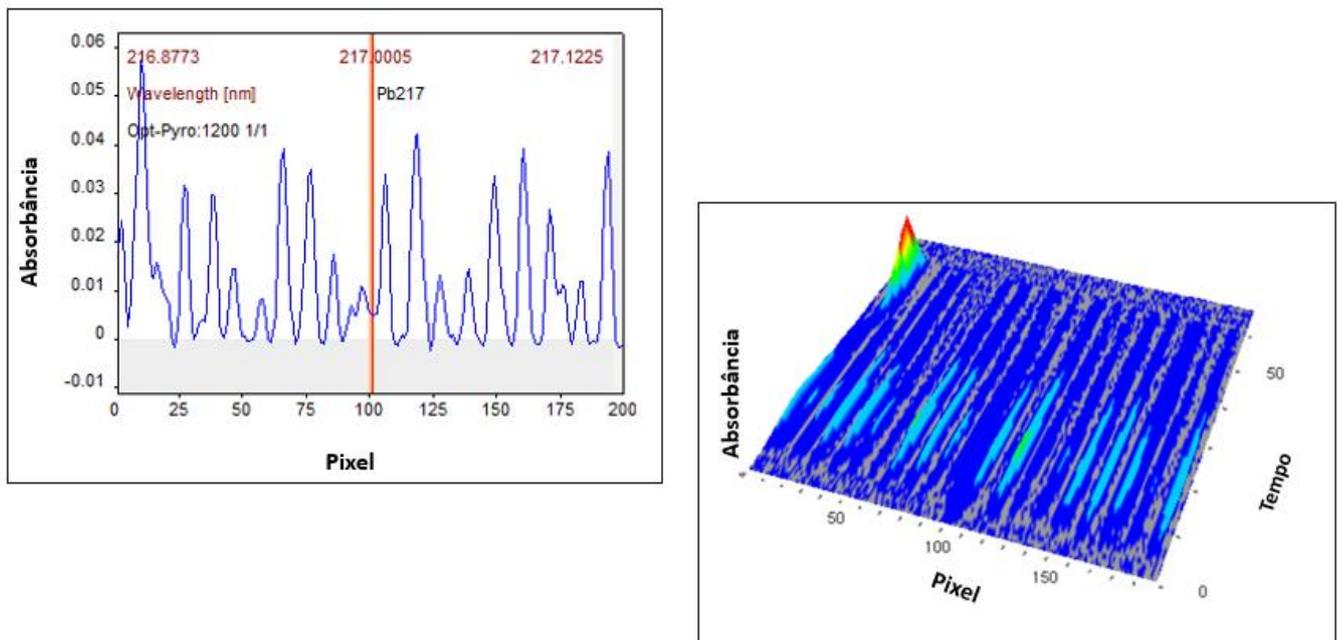
Assim, as melhores temperaturas de pirólise foram aquelas em que se observou maior estabilidade térmica dos analitos chumbo e cádmio nas amostras de mexilhão dourado e nas soluções padrão utilizadas. Já as melhores temperaturas de atomização foram aquelas em que se conseguiu o melhor perfil de pico, com sinais transientes estreitos e os menores desvios padrão.

#### 5.1.1 Análise do comportamento térmico do chumbo

Para as otimizações das temperaturas de pirólise e de atomização do chumbo selecionou-se a linha principal para esse analito, a 217,0005 nm (com sensibilidade de 100%).

Fixou-se a temperatura de atomização em 2000 °C e variou-se a de pirólise de 400 a 1200 °C, com intervalos de 200 °C. Foram pesadas massas próximas a 0,300 mg e foi investigada a necessidade ou não do uso de modificador químico, sendo que, para tanto, foram adicionados 5 µL da mistura Pd+Mg. Entretanto, verificou-se significativa interferência de fundo estruturado, proveniente de moléculas de PO e de SiO nessa linha analítica, como pode ser visto no gráfico do ambiente espectral, Figura 16, fornecido pelo software do programa.

Figura 16 - Interferências espectrais de moléculas de PO e de SiO na linha principal de chumbo (217,0005 nm)



Fonte: Autor

A HR-CS AAS possui, como uma das suas inúmeras vantagens analíticas, um algoritmo matemático para a correção de fundo por mínimos quadrados (LSBC – Least Square Background Correction). Esse algoritmo envolve o emprego de um espectro de referência gerado a partir de um sal ou de uma substância que possua o interferente nas mesmas condições analíticas (temperatura de pirólise, atomização e modificador químico) em que estão sendo gerados os espectros que necessitam de correção. Então, o espectro da molécula diatômica interferente é armazenado em um banco de dados e subtraído, usando o algoritmo dos mínimos quadrados, do espectro da amostra que precisa de correção <sup>44,98</sup>.

Diante disso, foram gerados os espectros dessas moléculas diatômicas por meio da utilização de SiO<sub>2</sub> e 5 µL do modificador químico, para SiO. Para PO, foram utilizados

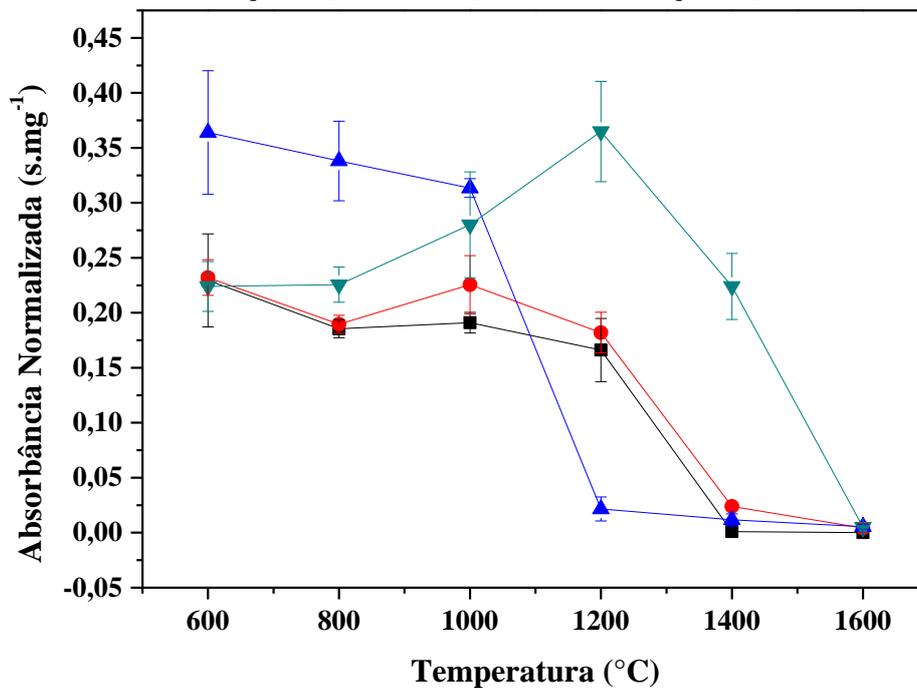
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  e 5  $\mu\text{L}$  da mistura Pd+Mg. Porém, mesmo empregando o LSBC, encontrou-se grande dificuldade de corrigir essa interferência de fundo estruturado.

Então, reiniciaram-se os estudos de pirólise com a linha secundária para chumbo, a 283,3060 nm, que apresentou sensibilidade de 42% e interferências espectrais facilmente solucionáveis pelo sistema de correção de fundo com base no algoritmo de mínimos quadrados. Foram pesadas massas do material de análise de aproximadamente 0,300 mg. A temperatura de atomização foi fixada em 2000 °C e as de pirólise variadas na faixa de 600 a 1600 °C, com intervalos de 200 °C. Averiguou-se a influência do modificador químico com alíquotas de 5  $\mu\text{L}$  da mistura Pd+Mg, depositadas sobre a amostra com o auxílio de uma micropipeta.

O comportamento térmico desse analito em solução aquosa foi analisado com a utilização de 2  $\mu\text{L}$  de uma solução contendo 50  $\mu\text{g/L}$  de chumbo.

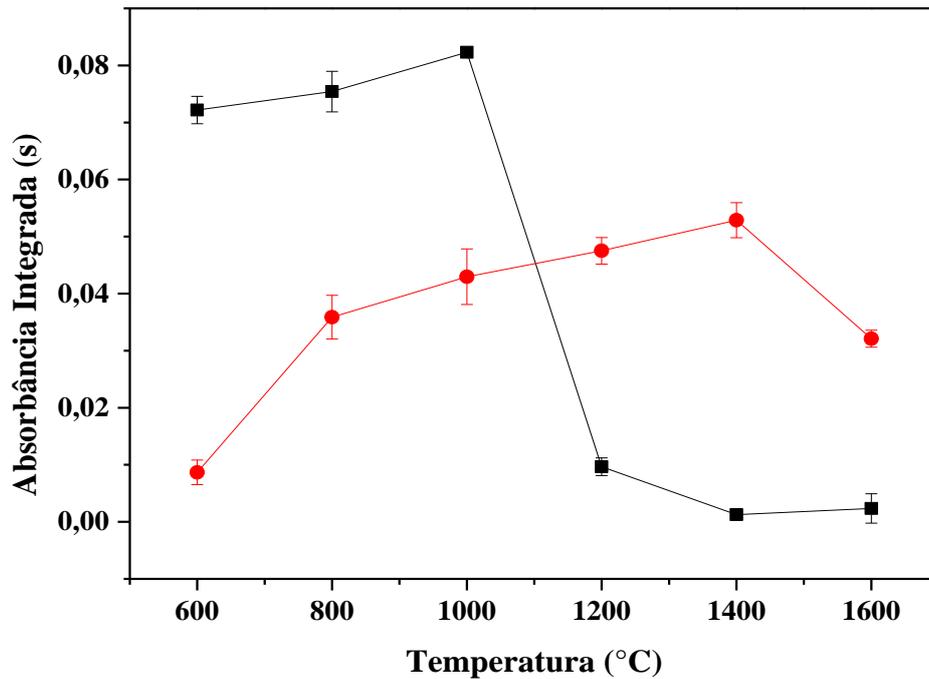
A comparação das curvas de pirólise feitas com o *Limnoperna fortunei* (concha e parte interna), Figura 17, com a curva da solução padrão, 50  $\mu\text{g/L}$  de chumbo, Figura 18, ambas com e sem o modificador químico, permite perceber que poderia ser selecionada como temperatura de compromisso 1000 °C, sem a necessidade da mistura Pd+Mg.

Figura 17 - Curvas da otimização da temperatura de pirólise de 600 a 1600 °C no *Limnoperna fortunei*: ■ Parte interna (sem modificador químico); ● Parte interna (com modificador químico); ▲ Concha (sem modificador químico); ▼ Concha (com modificador químico)



Fonte: Autor

Figura 18 - Curva do estudo de pirólise de 600 a 1600 °C: ■ Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (sem modificador químico) e ● Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (com modificador químico)

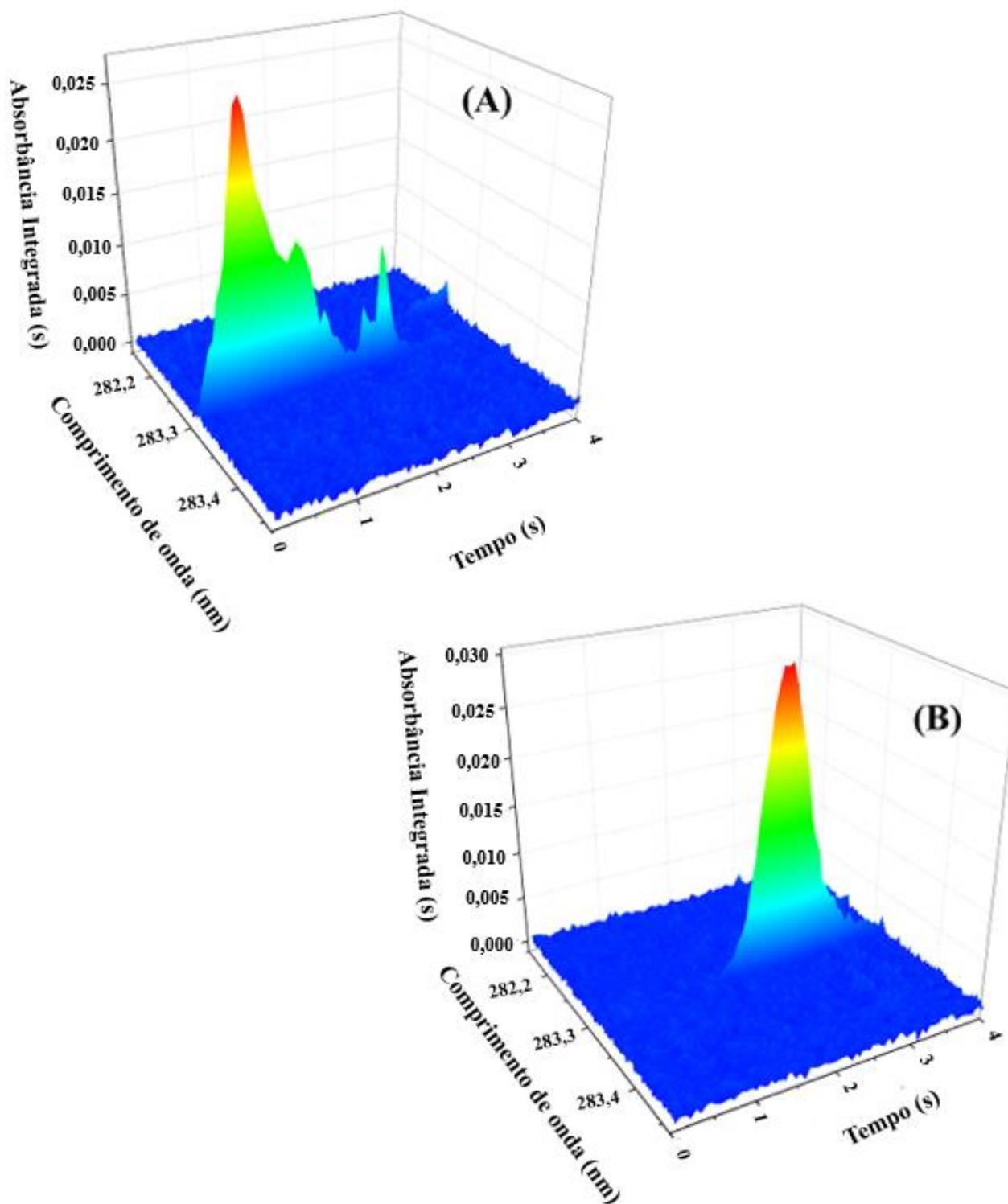


Fonte: Autor

Entretanto, quando se observam os perfis dos picos para as amostras de concha, Figura 19, os mesmos são melhores com o uso do modificador químico, pois sem a mistura Pd+Mg ocorreu a volatilização do analito junto com os concomitantes da matriz, durante a etapa de pirólise.

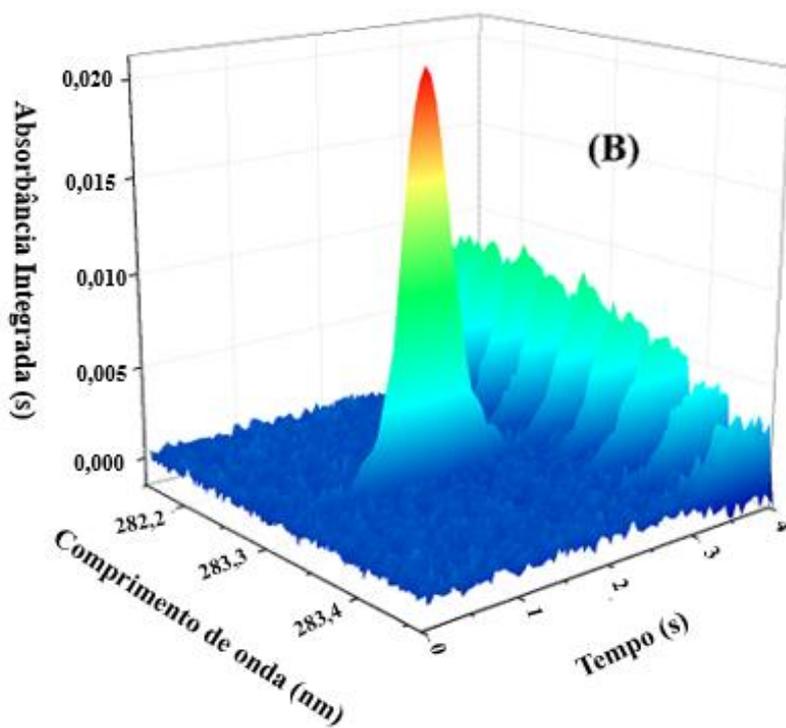
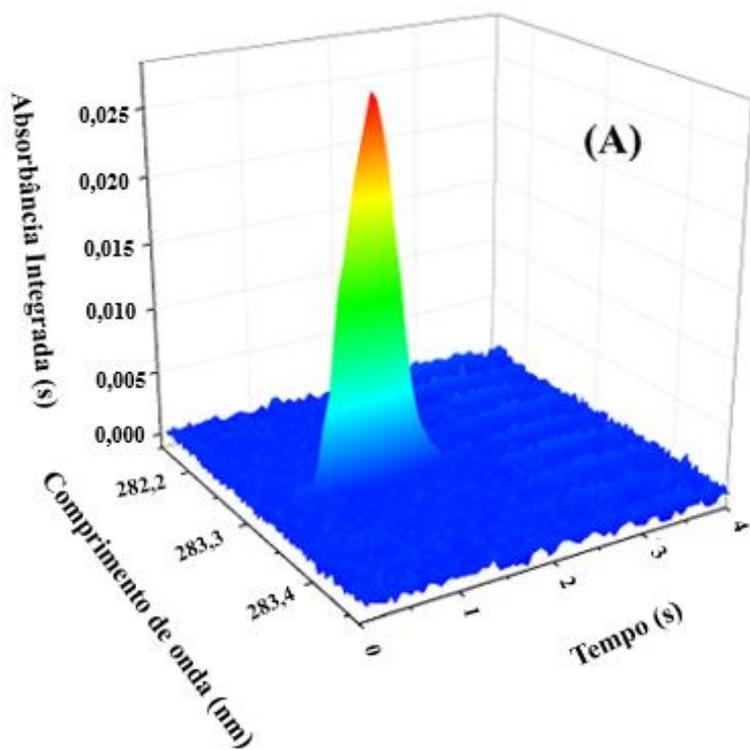
Para a parte interna, não houve significativa alteração com ou sem o uso da mistura Pd+Mg para a temperatura de pirólise em 1000 °C, Figura 20. Mas, como o objetivo dessa pesquisa é estabelecer um programa de aquecimento comum à concha e à parte interna do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), foi escolhida a temperatura de compromisso para pirólise em 1000 °C, com o uso de modificador químico, uma vez que o melhor perfil de pico, ou seja, de rápida aparição e retorno à linha base, bem como os menores desvios padrão, foram obtidos nessas condições. Portanto, a aplicação da pirólise assistida com Ar (argônio) a 1000 °C, por 20 segundos, eliminou a matriz completamente, já que não foram observados sinais de fundo provenientes de resíduos carbonáceos. Foi perceptível apenas o surgimento de fundo estruturado, nas amostras da parte interna, que provavelmente se deve a moléculas diatômicas de PO ou de SiO.

Figura 19 - Espectros de absorção atômica para o chumbo (283,3060 nm), referentes à influência do modificador químico no perfil do pico das amostras de concha: (A) sem Pd+Mg e (B) com 5  $\mu$ L Pd+Mg



Fonte: Autor

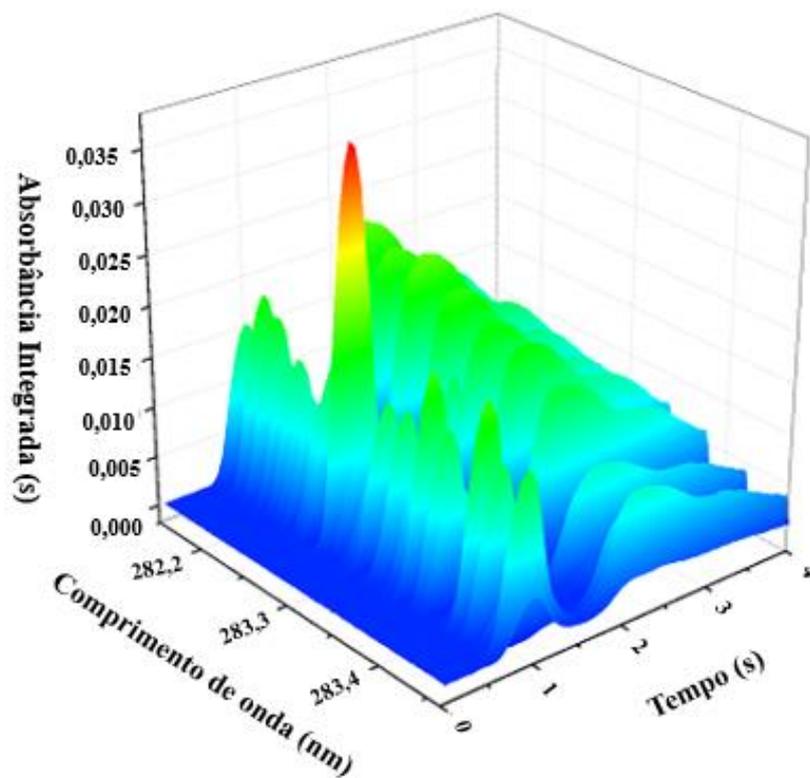
Figura 20 - Espectros de absorção atômica para o chumbo (283, 3060 nm) referentes à influência do modificador químico no perfil do pico das amostras da parte interna: (A) sem Pd+Mg e (B) com 5  $\mu$ L Pd+Mg



Fonte: Autor

Essa interferência espectral pode ser oriunda das moléculas de SiO e PO. Isso porque a região espectral do chumbo pode apresentar sinais característicos desses sistemas diatômicos mencionados, e isso pode ocasionar um aumento da absorção de radiação eletromagnética, bem como sub e sobrecorreções na linha base do espectro, o que interfere erroneamente nas quantificações do analito de interesse, necessitando de correção<sup>100, 101</sup>. Dessa forma, foi gerado o espectro dessas moléculas diatômicas através da introdução de SiO<sub>2</sub> e 5 µL do modificador químico, para SiO, e de NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 5 µL da mistura Pd+Mg, para PO. Foi observado fundo estruturado apenas para SiO<sub>2</sub>. Na Figura 21, está ilustrado o espectro tridimensional da estrutura de fundo observada e oriunda da molécula de SiO, que ocasionou a interferência na linha analítica empregada.

Figura 21 - Espectro obtido a partir do SiO<sub>2</sub> e 5 µL do modificador químico

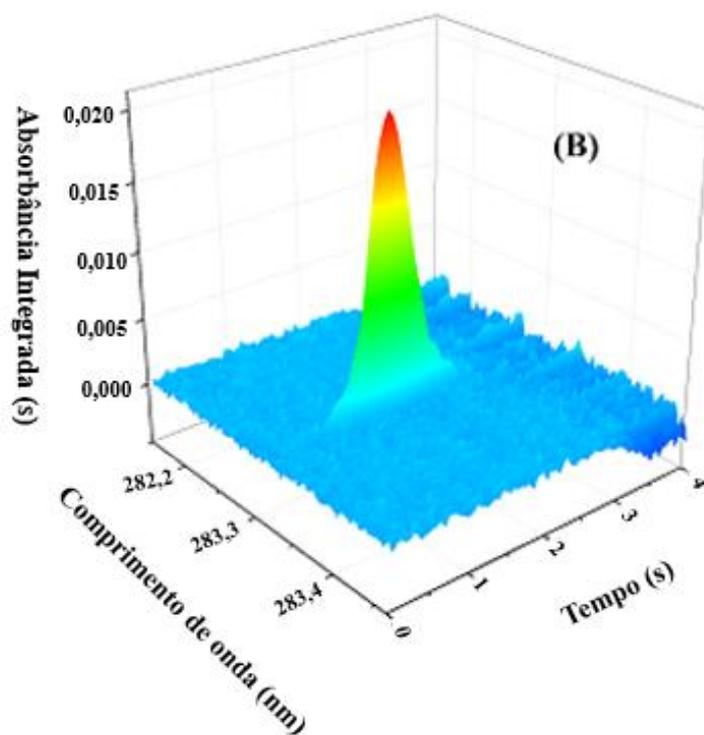
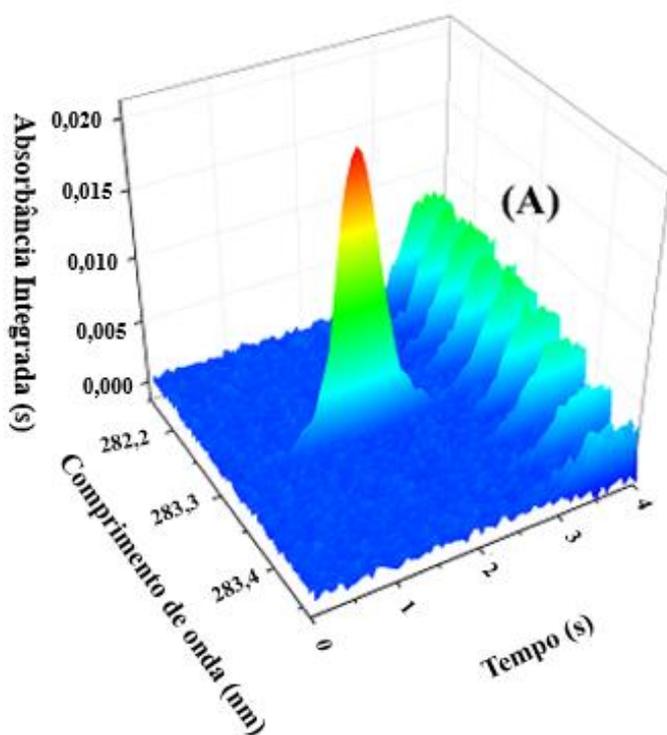


Fonte: Autor

O espectro para SiO foi gerado justamente para aplicar o sistema de correção de fundo por mínimos quadrados, o LSBC, pois com esse sistema de correção, a interferência de fundo estruturado originária das moléculas de SiO foi solucionada. A Figura 22 comprova a eficiência desse método de correção, uma vez que se observou que os sinais de fundo

desapareceram. Portanto, todos os demais estudos realizados tiveram os espectros gerados das análises da parte interna do mexilhão dourado submetidos ao sistema de correção LSBC.

Figura 22 - Demonstração da eficiência de correção de fundo com o sistema LSBC para a parte interna do mexilhão dourado, em que: (A) espectro sem correção e (B) espectro submetido à correção LSBC



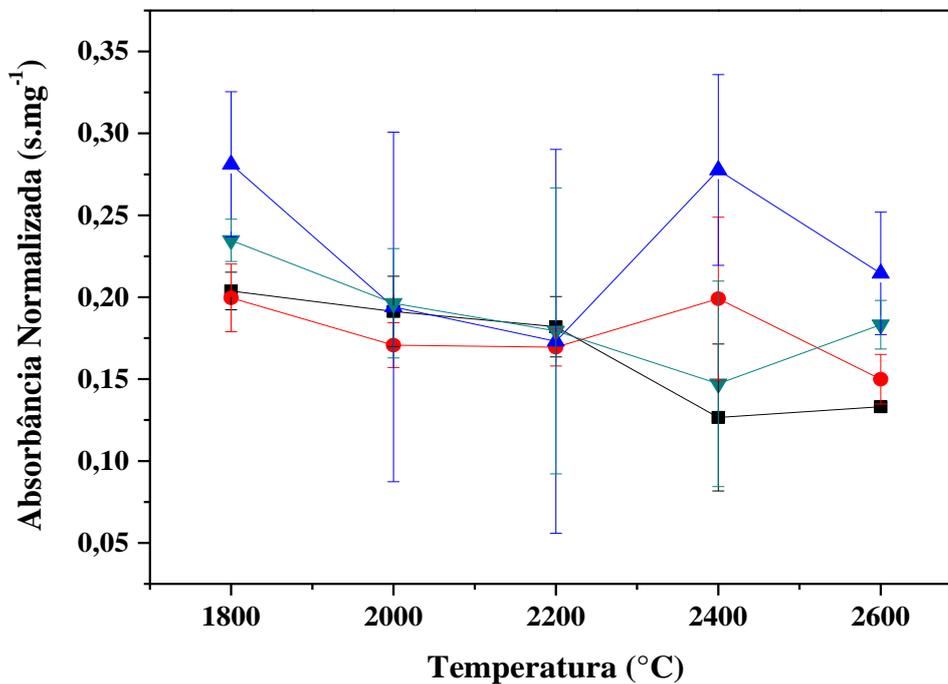
Fonte: Autor

Após a otimização da temperatura de pirólise, foram executadas as otimizações de atomização. Assim, empregou-se a  $T_p$  já definida e variou-se a temperatura de atomização de 1800 a 2600 °C, pesando massas de cerca de 0,300 mg para a concha e a parte interna do *Limnoperna fortunei*, com e sem o modificador químico.

A Figura 23 apresenta as curvas de atomização obtidas nessa etapa de otimização. Já a Figura 24 exibe o gráfico das curvas de atomização para chumbo em meio aquoso, referentes a 50 µg/L desse elemento, com e sem o modificador químico para a averiguação do comportamento térmico do mesmo em solução.

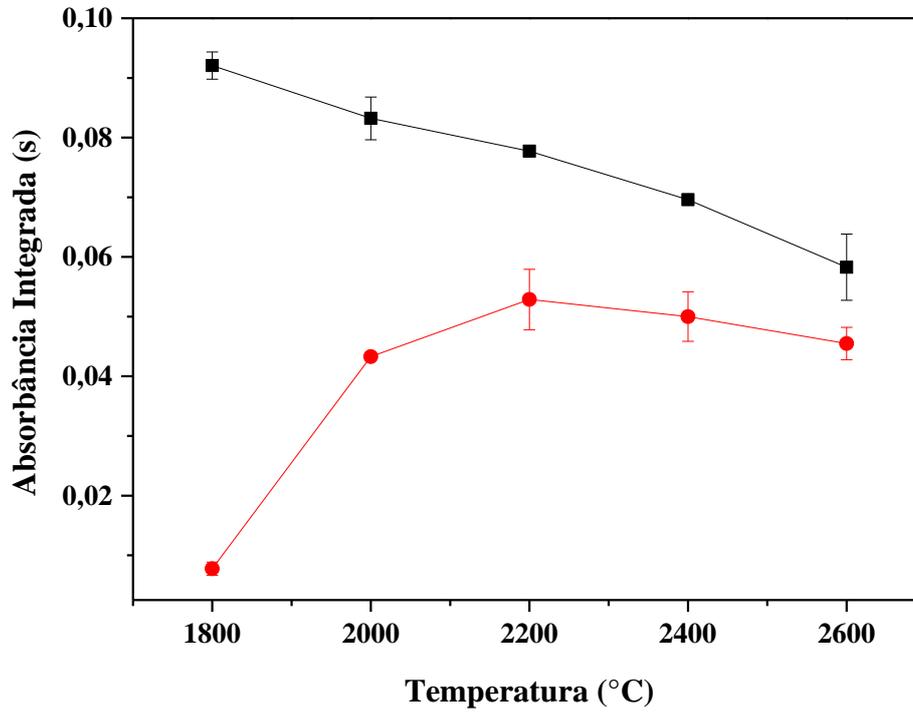
Figura 23 - Curvas da otimização da temperatura de atomização de 1800 a 2600 °C no *Limnoperna fortunei*:

■ Parte interna (sem modificador químico), ● Parte interna (com modificador químico), ▲ Concha (sem modificador químico) e ▼ Concha (com modificador químico)



Fonte: Autor

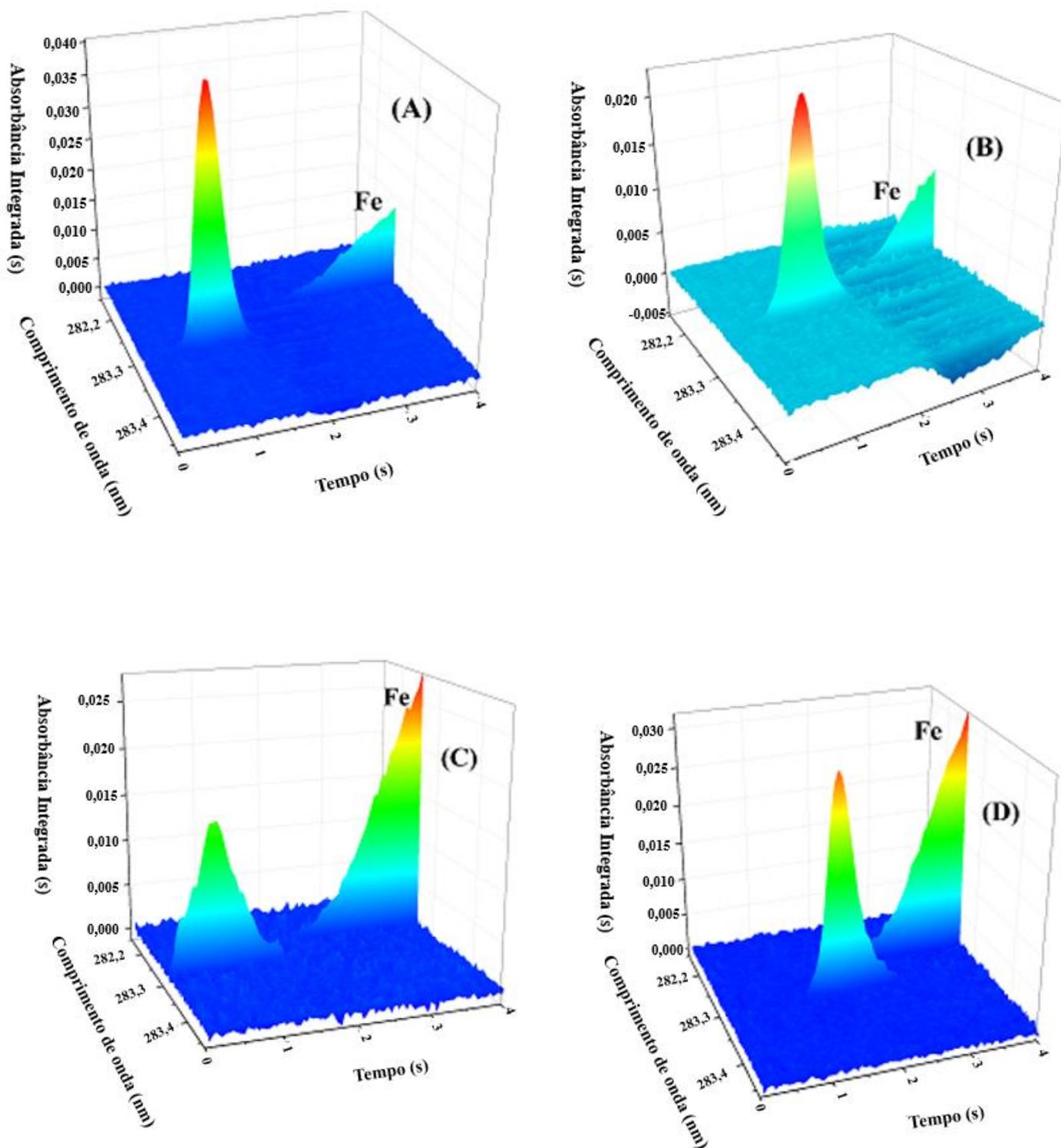
Figura 24 - Curva do estudo de atomização de 1800 a 2600 °C: ■ Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (sem modificador químico) e ● Solução Padrão 50 µg/L de chumbo (com modificador químico)



Fonte: Autor

Na comparação das curvas de atomização feitas com o mexilhão dourado (concha e parte interna) com a curva da solução padrão, é possível observar que ocorre a estabilização do sinal do analito a partir de 2200 °C. Assim, também levando em consideração a avaliação dos perfis dos picos, selecionou-se como temperatura de compromisso para a atomização 2200 °C, com o uso do modificador químico, já que nessas condições foi obtido o melhor perfil do pico (Figura 25) e os menores desvios padrão relativos. Essa temperatura não é tão elevada, o que contribui para aumentar o tempo de vida útil das plataformas de grafite do tipo “boat”, utilizadas como recipientes de condução das amostras até o atomizador.

Figura 25 - Influência do modificador químico para a temperatura de atomização do chumbo, em que: (A) parte interna sem modificador químico; (B) parte interna com modificador químico; (C) concha sem modificador químico e (D) concha com modificador



Fonte: Autor

A partir da observação dos perfis dos picos durante os estudos do comportamento térmico do chumbo no mexilhão dourado, ficou evidente a necessidade do uso do modificador químico universal Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Isso porque esse modificador melhorou significativamente os perfis dos picos para as amostras de concha, durante as otimizações das temperaturas de pirólise e atomização. Dessa forma, os demais estudos foram realizados fazendo-se uso dessas condições de compromisso estabelecidas e que estão demonstradas no programa de aquecimento da Tabela 6.

Tabela 6 - Programa de aquecimento otimizado e completo, utilizado nas quantificações de chumbo nas amostras de *Limnoperna fortunei* por meio da HR-CS GF AAS

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Razão de aquecimento (°C/s)</b>	<b>Permanência (s)</b>	<b>Vazão do gás (L/min)</b>
<b>Secagem 1</b>	110	6	10	2,0 (Ar)
<b>Secagem 2</b>	130	5	10	2,0 (Ar)
<b>Pirólise</b>	1000	300	20	2,0 (Ar)
<b>Auto-zero</b>	1000	0	5	0
<b>Atomização</b>	2200	1500	4	0
<b>Limpeza</b>	2650	500	4	2,0 (Ar)

Fonte: Autor

### **5.1.2 Análise do comportamento térmico do cádmio**

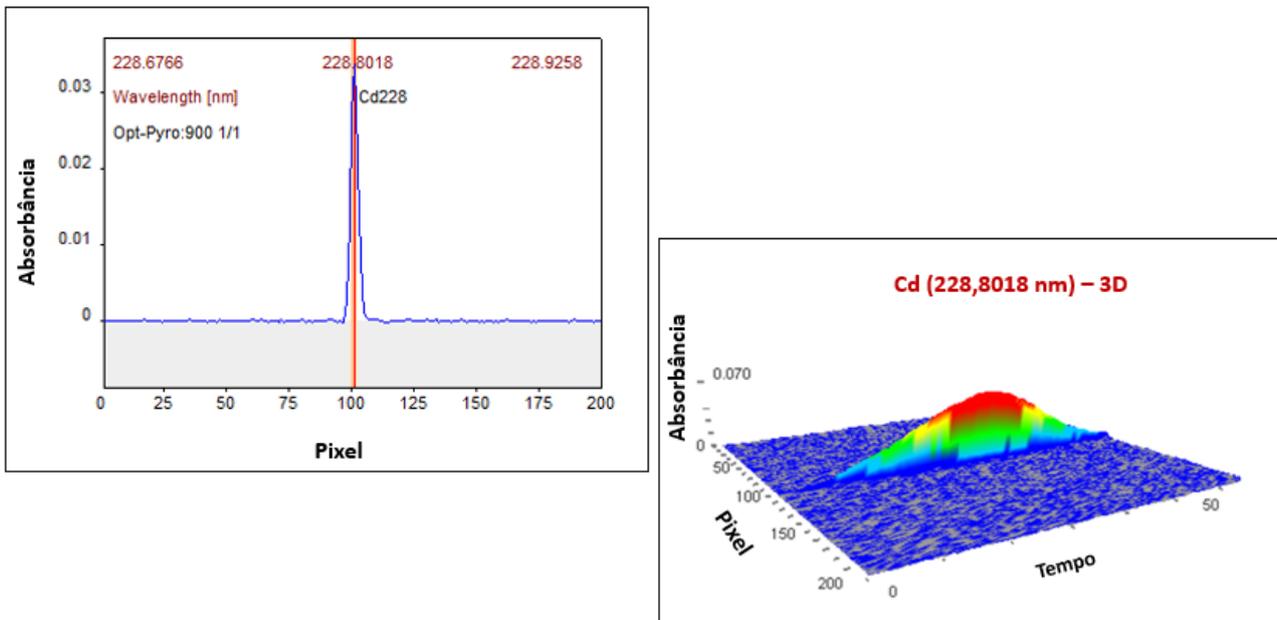
As temperaturas de pirólise e atomização do cádmio foram otimizadas com a linha principal para esse elemento, a 228,8018 nm (sensibilidade de 100%). Então, foram estudadas as temperaturas de pirólise: 400, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 e 1400 °C, com a temperatura de atomização fixada preliminarmente em 2000 °C. Foram pesadas massas das amostras de concha e da parte interna de, aproximadamente, 0,300 mg e fez-se o uso de modificador químico, 5 µL da mistura Pd+Mg.

Para a checagem do comportamento térmico desse elemento em solução, foram removidos 2 µL de uma solução padrão contendo 20 µg/L de cádmio, também na presença de 5 µL de Pd+Mg.

No caso do cádmio, os estudos das temperaturas de compromisso já foram desenvolvidos com o uso do modificador químico, pois de acordo com trabalhos da literatura realizados com outros tipos de matriz, mas que quantificaram esse elemento, ele é volátil. Além disso, o cádmio é termicamente instável até mesmo no padrão aquoso, ou seja, o sinal analítico diminui com o aumento da temperatura. Então, como o uso do modificador químico foi indispensável para o sucesso das quantificações, selecionou-se a mistura Pd + Mg, que é o modificador universal<sup>100, 102, 103</sup>.

Como não ocorreram interferências de fundo estruturado na linha principal para esse analito, o que pode ser conferido na Figura 26, que demonstra o gráfico do ambiente espectral fornecido pelo software do programa do equipamento, os estudos de pirólise e atomização para cádmio foram prosseguidos com o uso dessa linha analítica.

Figura 26 - Gráfico do ambiente espectral do cádmio (228, 8018 nm), evidenciando a ausência de interferências de fundo estruturado

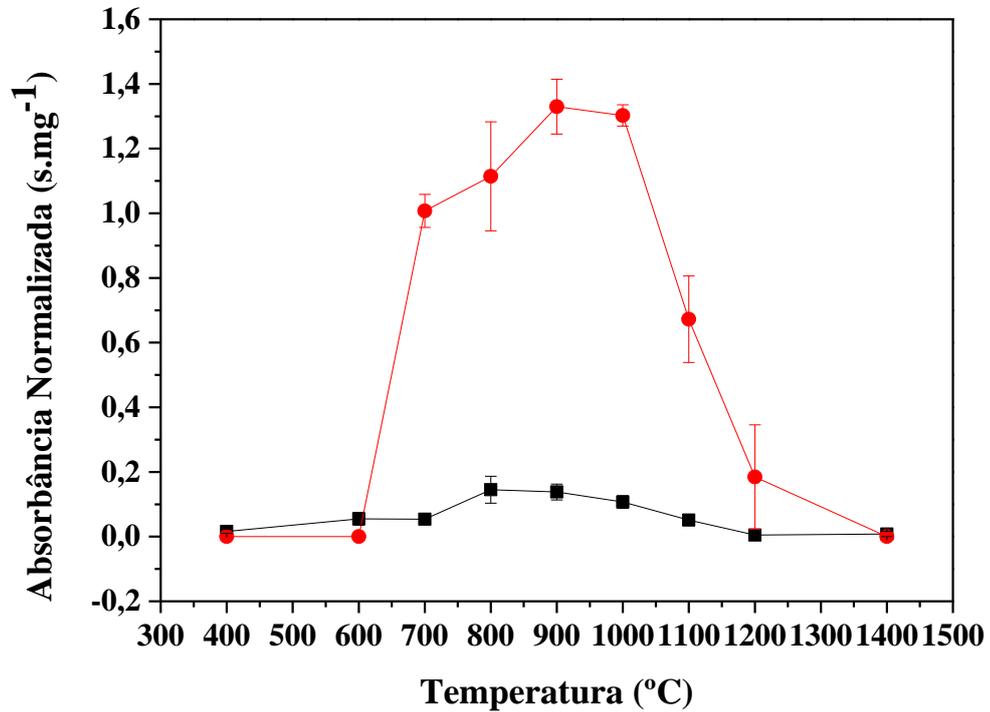


Fonte: Autor

A Figura 27 ilustra o comportamento térmico do cádmio nas amostras de concha e parte interna do mexilhão dourado. Nela é possível determinar que a melhor temperatura de pirólise, que proporcionou a eliminação completa da matriz, foi a de 900 °C. Isso fica ainda

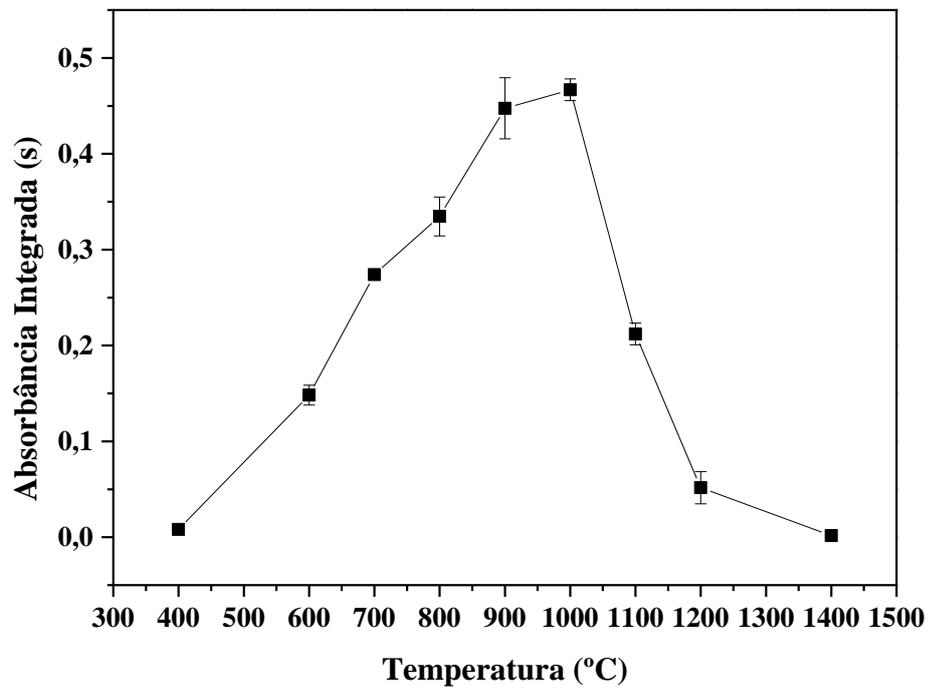
mais aparente quando se faz a comparação da Figura 27 com a Figura 28, que demonstra o comportamento térmico desse analito em solução.

Figura 27 - Curva de pirólise para o cádmio : ● Parte interna e ■ Concha, ambas com modificador químico



Fonte: Autor

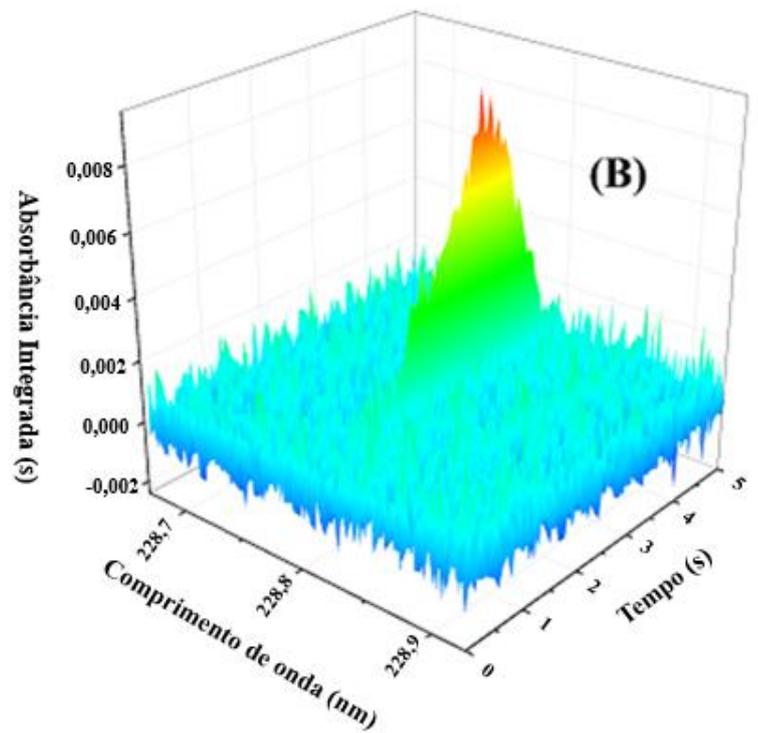
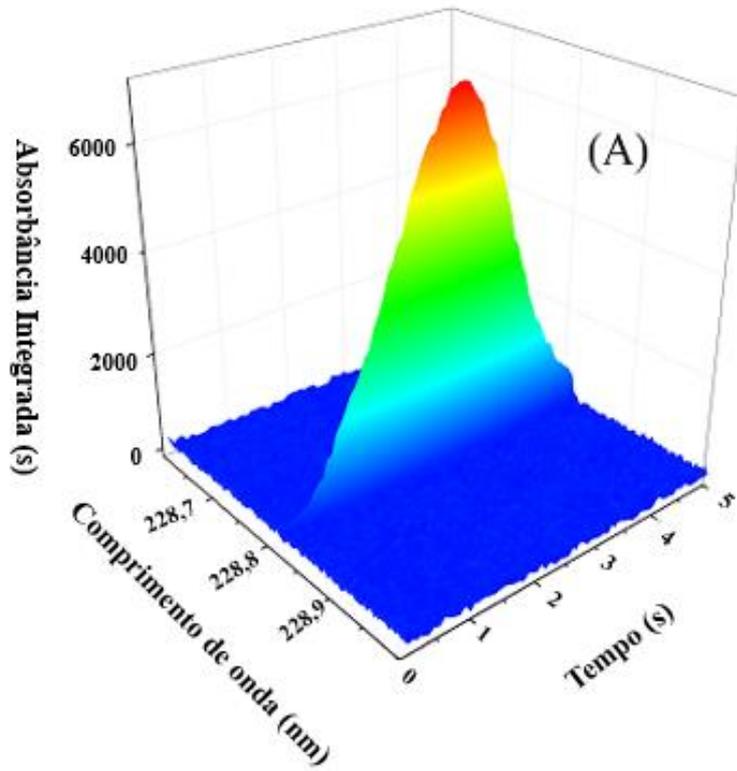
Figura 28 - Curva da avaliação do comportamento térmico do cádmio em solução padrão 20 µg/L do mesmo



Fonte: Autor

A Figura 29 demonstra os perfis dos picos para concha e parte interna do mexilhão dourado obtidos para a temperatura de pirólise a 900 °C. Estes perfis comprovam a eficiência da temperatura selecionada e do uso do modificador químico, na eliminação da matriz.

Figura 29 - Perfis dos picos obtidos para o cádmio para parte interna e para a concha do *Limnoperna fortunei*, com temperatura de pirólise a 900 °C, sendo: (A) parte interna e (B) concha

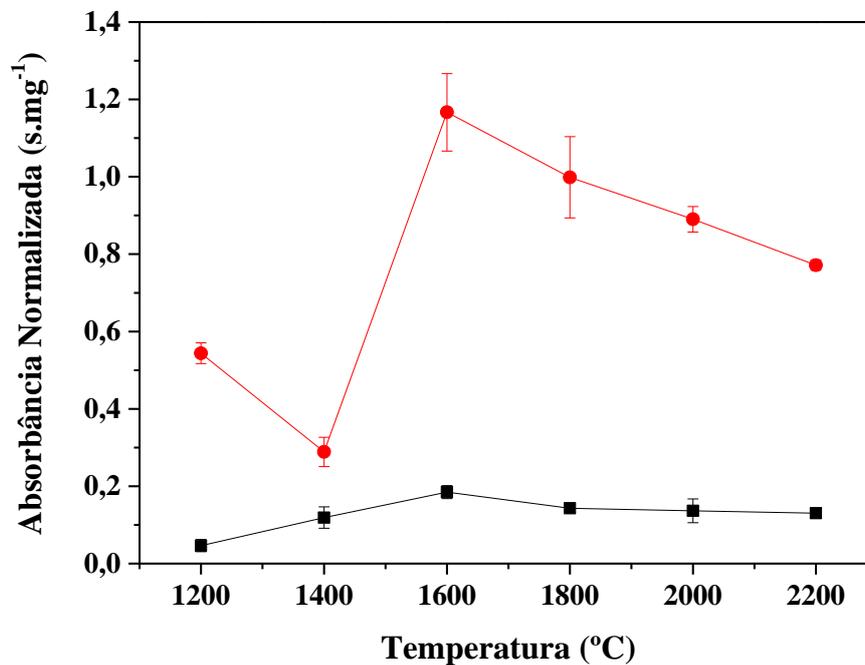


Fonte: Autor

Com a definição da melhor temperatura de pirólise para a quantificação de cádmio no mexilhão dourado, seguiram-se para as análises a fim de estabelecer a temperatura de compromisso para a atomização do mesmo. Foram pesadas massas de cerca de 0,300 mg, adicionou-se 5  $\mu\text{L}$  da mistura Pd+Mg como modificador químico, utilizou-se a temperatura de pirólise já otimizada e variou-se a de atomização de 1200 a 2200  $^{\circ}\text{C}$ , com intervalos de 200  $^{\circ}\text{C}$ .

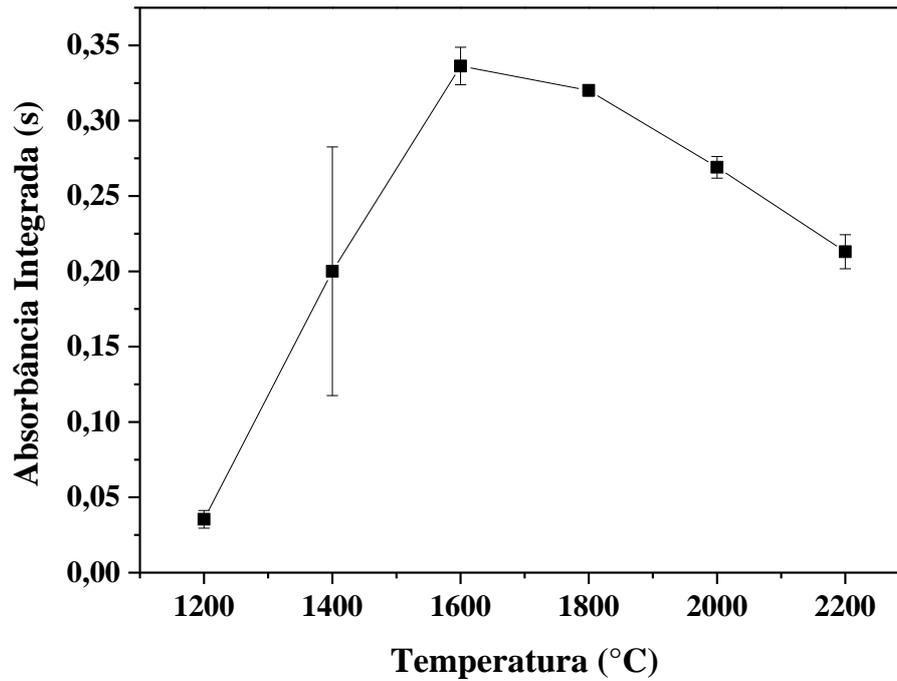
As Figuras 30 e 31 demonstram, respectivamente, as curvas de atomização alcançadas para as amostras de concha e parte interna, e a da solução padrão.

Figura 30 - Curvas de atomização para o cádmio: ● Parte interna e ■ Concha das amostras de mexilhão dourado, ambas com o uso do modificador químico



Fonte: Autor

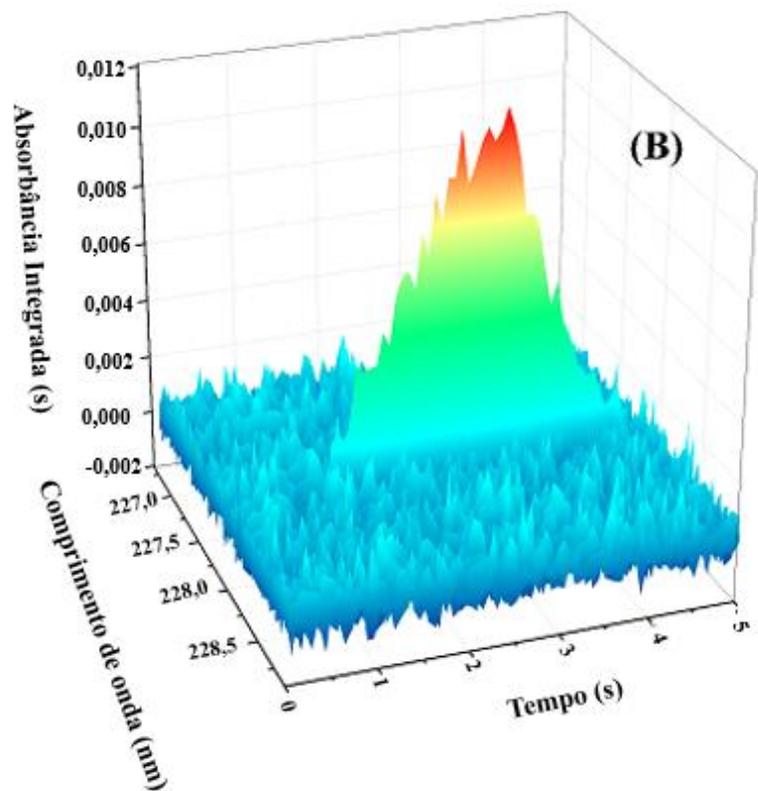
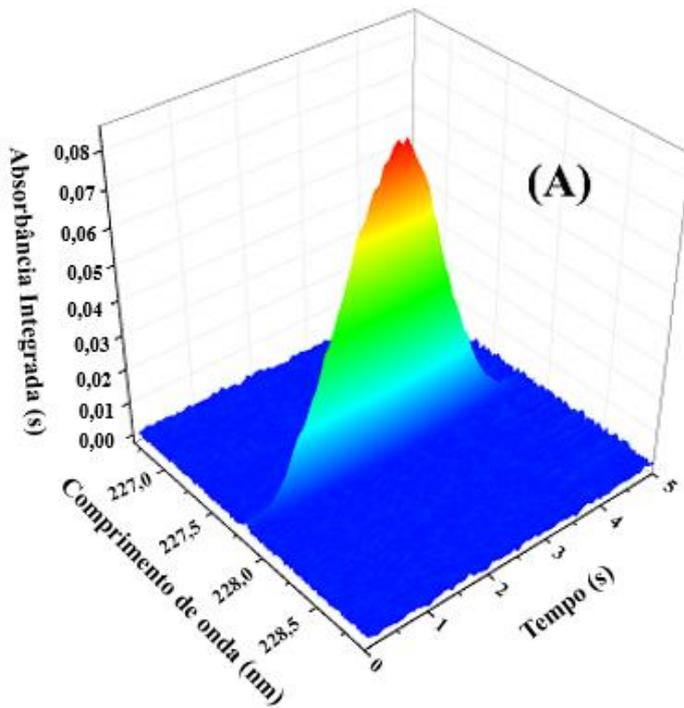
Figura 31 - Curva de atomização para a solução padrão 20 µL/L de cádmio



Fonte: Autor

A partir do confronto das curvas de atomização obtidas e ilustradas nas Figuras 30 e 31 com os perfis dos picos expostos na Figura 32, foi selecionada como temperatura de compromisso para atomização 1600 °C, pois foi com essa temperatura que se conseguiu os melhores perfis de picos, tanto para as amostras de concha como para as de parte interna, uma vez que esta pesquisa almejou uma condição de quantificação comum para elas.

Figura 32 - Perfis de pico obtidos para o cádmio com a temperatura de atomização em 1600 °C, em que: (A) parte interna e (B) concha



Fonte: Autor

Após a determinação das condições de compromisso para pirólise e atomização, as demais otimizações e as quantificações foram desenvolvidas com o uso do programa de aquecimento completo e exposto na Tabela 7.

Tabela 7 - Programa de aquecimento otimizado e completo para as demais otimizações, com o intuito de realizar a quantificação de cádmio nas amostras de mexilhão dourado

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Razão de aquecimento (°C/s)</b>	<b>Permanência (s)</b>	<b>Vazão do gás (L/min)</b>
<b>Secagem 1</b>	110	20	10	2,0 (Ar)
<b>Secagem 2</b>	200	20	10	2,0 (Ar)
<b>Pirólise</b>	900	100	20	2,0 (Ar)
<b>Auto-zero</b>	900	0	5	0
<b>Atomização</b>	1600	1000	5	0
<b>Limpeza</b>	2500	500	4	2,0 (Ar)

Fonte: Autor

### 5.3 Análise das figuras de mérito

A avaliação dos parâmetros de mérito para chumbo e cádmio foi desenvolvida por meio dos programas de aquecimento otimizados para esses analitos e com o emprego do modificador químico.

Para ambos os elementos em estudo, o branco analítico foi determinado por meio das medidas realizadas apenas com a plataforma de grafite e com 5 µL de Pd+Mg, ou seja, a partir do princípio de “massa zero”<sup>90, 100</sup>.

Os Limites de Detecção (LOD – Limit Of Detection) e os Limites de Quantificação (LOQ – Limit Of Quantification) foram calculados com  $LOD = 3\sigma/S$  e  $LOQ = 10\sigma/S$ , onde  $\sigma$  é o desvio padrão de dez brancos e S é a inclinação da curva de calibração<sup>101</sup>.

As curvas resposta para as calibrações foram desenvolvidas, no caso do chumbo, com o CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e padrões aquosos. O melhor método de calibração foi definido a partir das comparações da sensibilidade da curva e da massa característica. Para tanto, a massa característica foi definida como a quantidade do analito em estudo (em picogramas), necessária para produzir um sinal de 0,0044 s, ou seja,

1% de absorção. Já para o cádmio, só foi possível a construção da curva de calibração a partir da solução padrão <sup>104</sup>.

O estudo de massa para o chumbo também foi realizado com esse CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976). Esse mesmo estudo, para o cádmio, foi executado com a amostras da parte interna do tecido de mexilhão, coletada no fundo e submetida ao processo de lavagem com água deionizada <sup>105</sup>.

### **5.3.1 Calibração**

O procedimento de calibração, para uma gama de técnicas analíticas, principalmente para a DSS, é considerado uma etapa crucial para a obtenção de bons resultados. A principal dificuldade é a semelhança entre a composição química da amostra e os padrões de calibração usados. Diante disso, são utilizados os CRMs, em que se pesa uma massa fixa de vários materiais de referência certificados, com diferentes concentrações, ou massas crescentes de um mesmo CRM. Porém, é bastante complicado conseguir um CRM com composição semelhante ao material de estudo, e alguns desses materiais apresentam valores certificados somente para concentrações superiores as massas utilizadas na amostragem direta de sólidos <sup>90, 105</sup>.

#### *5.3.1.1 Intervalos lineares para o chumbo*

Diante da possibilidade da utilização de calibração com padrão aquoso para a análise de amostras sólidas, para as determinações de chumbo foram construídas curvas analíticas do CRM para tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e da solução padrão 200 µg/L de chumbo, ambos com o uso de modificador químico. Isto para que, através da comparação das massas características ( $m_0$ ) e da sensibilidade das curvas, fosse definido o melhor método de calibração para as medidas. Então, para o CRM foram pesadas diferentes massas: 0,16; 0,32; 0,48 e 0,64 mg, correspondendo ao intervalo de 190,4 a 1594,6 pg de chumbo, e adicionados 5 µL do modificador químico (Pd+Mg). No caso da solução padrão, diferentes volumes foram introduzidos na plataforma: 1; 3; 5; 7 e 9 µL em presença de 5 µL do modificador químico (Pd+Mg); dessa forma foi construída a curva de calibração aquosa nos intervalos de 200 – 1800 pg de chumbo.

A partir da comparação dos valores das massas características com os de sensibilidade das curvas de calibração, Tabela 8, foi notável que não seria possível a calibração com padrão aquoso para análise direta de sólidos do mexilhão dourado, uma vez que a grande diferença entre os valores de  $m_0$  e da sensibilidade da curva evidenciavam o efeito da matriz desse material, o que impedia a calibração aquosa. Neste contexto, foi usada a curva de calibração construída com o CRM para as quantificações do analito de interesse.

Tabela 8 - Parâmetros das curvas de calibração para chumbo construídas com o CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e com a solução padrão 200 µg/L de chumbo, ambas com modificador químico

Curvas de calibração	Parâmetros		
	$y = ax + b$	R	$m_0$ (pg)
CRM (Mussel Tissue – 2976)	$y = 0,0003x - 0,0006$	0,9923	11,39
Solução padrão 200 µg/L	$y = 0,00211x + 0,000044$	0,9977	91,5

Fonte: Autor

### 5.3.1.2 Intervalos lineares para o cádmio

No que diz respeito à calibração para as quantificações de cádmio encontrou-se a mesma dificuldade que impossibilitou o estudo de massa, ou seja, os CRMs disponíveis não foram adequados para este propósito. As altas concentrações desse analito nos CRMs contribuíram para desvios na lei de Lambert - Beer para a linha analítica principal, o que impediu a construção de curvas de calibração com material sólido. Deste modo, foi construída uma curva de calibração aquosa para o cádmio, com o uso de uma solução padrão 12,5 µg/L desse elemento, da qual foram pipetados 0,5; 1,5; 3; 6 e 10 µL, condizendo com o intervalo de 6,25 a 125 pg de cádmio. Os volumes foram transferidos para a plataforma de grafite com o auxílio de uma micropipeta e sobre eles foram adicionados 5 µL do modificador químico (Pd+Mg).

Assim, a Tabela 9 demonstra os parâmetros resultantes da curva de calibração a partir de uma solução padrão 12,5 µg/L de cádmio.

Tabela 9 - Parâmetros da curva de calibração para cádmio feita com a solução padrão de 12,5 µg/L desse analito

Curva de calibração	Parâmetros		
	$y = ax + b$	R	$m_0$ (pg)
Solução padrão 12,5 µg/L	$y = 0,00803x + 0,00748$	0,9942	0,41

Fonte: Autor

### 5.3.2 Estudo de massa mínima

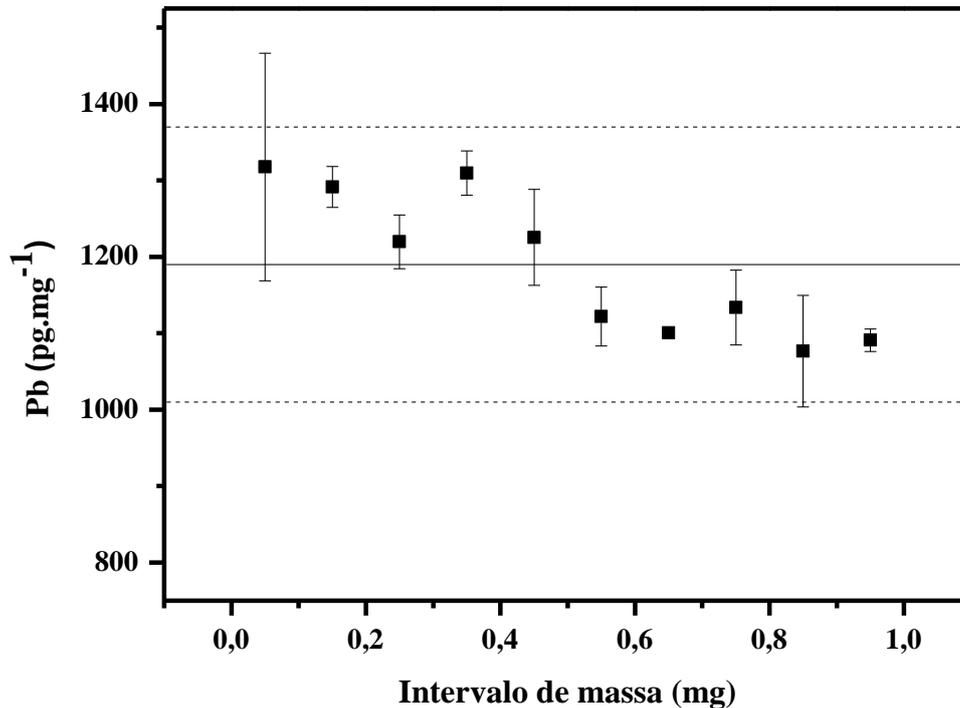
O estudo de massa também é um parâmetro bastante importante para atestar o bom desempenho das determinações analíticas. Isso porque o uso de massas reduzidas de amostras exige testes que comprovem a representatividade da mesma para, dessa forma, garantir a exatidão e a precisão dos resultados alcançados<sup>106, 107</sup>.

#### 5.3.2.1 Massa mínima para o chumbo

Nesta pesquisa, para as determinações de chumbo foram analisadas massas na faixa de 0,05 a 1 mg, com intervalos de 0,1 mg, que foram pesadas e analisadas em triplicata, utilizando o CRM para tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976) e 5 µL do modificador químico (Pd+Mg).

Na Figura 33 está ilustrado esse estudo, onde a linha horizontal contínua corresponde à concentração de chumbo do CRM utilizado, que é de  $1,19 \pm 0,18$  mg/kg, e as linhas horizontais tracejadas são relativas ao desvio padrão dessa concentração. Observando os resultados encontrados, esse estudo indicou que massas no intervalo de 0,150 a 0,850 mg garantiriam exatidão e precisão nas medidas. Em se tratando de massas menores do que 0,150 mg, o desvio alto causaria incerteza sobre as concentrações determinadas, pois a relação sinal/ruído seria prejudicada, já que a linha de base é somada ao sinal do analito. Já para massas maiores do que 0,850 mg, a oclusão do analito devido à grande quantidade de massa de amostra, que dificulta a atomização, ocasionaria a inexatidão nas quantificações. Assim, foram utilizadas para as quantificações, aproximadamente, 0,250 mg das amostras de mexilhão dourado<sup>90</sup>.

Figura 33 - Estudo de massa mínima com o CRM (Mussel Tissue – 2976) para a determinação de chumbo em mexilhão dourado no intervalo de 0,05 a 1 mg



Fonte: Autor

### 5.3.2.2 Massa mínima para o cádmio

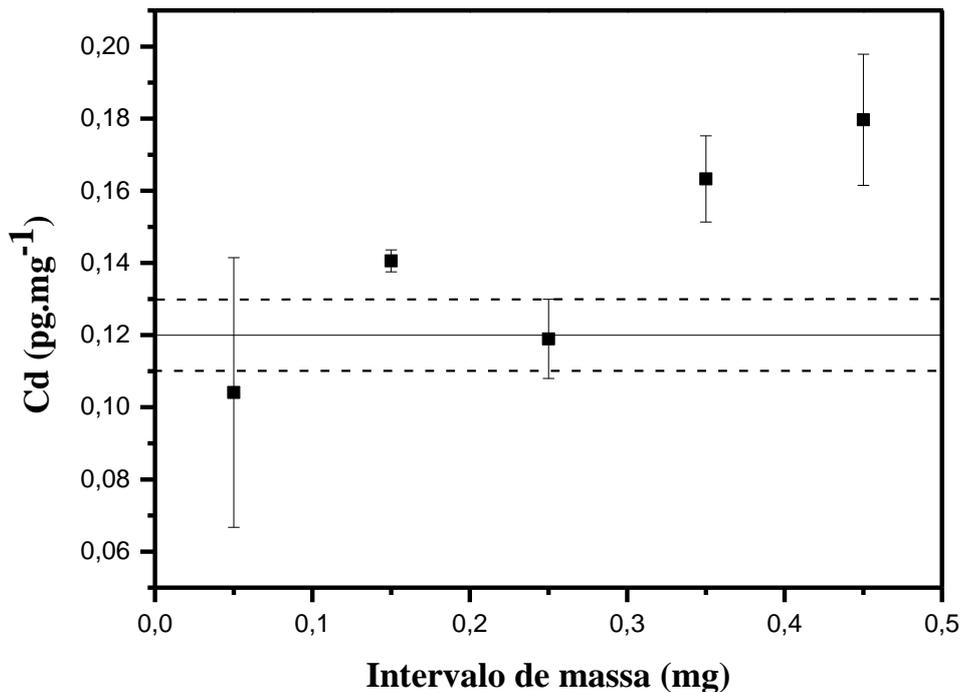
No caso do cádmio foram avaliadas, também em três repetições, massas no intervalo de 0,05 a 0,55 mg, com intervalos de 0,1 mg, de uma das amostras da parte interna do tecido de mexilhão, coletada no fundo e submetida ao processo de lavagem com água deionizada. Sobre essa amostra foram adicionados 5  $\mu$ L de Pd+Mg.

A não utilização do CRM para tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976), assim como do tecido de ostra (Oyster Tissue - 1566b) e do fígado de lagosta sem remoção da gordura (LUTS-1: Non defatted lobster hepatopancreas), deveu-se ao fato da presença de altas concentrações de cádmio nesses CRMs, o que inviabiliza as quantificações com a linha analítica principal, uma vez que ocorrem desvios a lei de Lambert - Beer<sup>42, 44, 108</sup>. Também experimentou-se realizar esse mesmo estudo de massa com os materiais certificados, por meio do uso da linha secundária para o cádmio, a 226,5020 nm. Porém, essa linha analítica possuía sensibilidade de 36%, o que foi insuficiente para a obtenção de sinal analítico do elemento em questão e impossibilitou as quantificações.

Com o intuito de obter o conhecimento da concentração de cádmio na amostra selecionada, o que era essencial para dar prosseguimento à avaliação de massa, a amostra foi digerida tomando como base o método EPA 3052 <sup>97</sup> e analisada através da Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS – Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) <sup>108–111</sup>.

A Figura 34 mostra o estudo de massa para cádmio. A linha horizontal contínua corresponde à concentração desse analito determinada na amostra, que é de  $0,12 \pm 0,012$  mg/kg, e as linhas horizontais tracejadas são relativas ao desvio padrão dessa concentração. Observa-se com essa figura, que apenas massas próximas a 0,250 mg proporcionariam exatidão nas determinações desse analito. Logo, o uso de massas menores do que 0,250 mg forneceriam medidas inexatas devido à relação sinal/ruído ser prejudicada pela soma da linha de base ao sinal do analito. Massas maiores do que 0,250 mg indicaram grande influência da matriz, devido à grande quantidade de amostra que foi submetida ao programa de aquecimento otimizado. Portanto, a etapa de pirólise proposta não foi eficiente para a eliminação completa da matriz da amostra em trabalho, e os resultados não foram exatos.

Figura 34 - Estudo de massa mínima com a amostra de mexilhão dourado para a determinação de cádmio, no intervalo de 0,05 a 0,55 mg.



Fonte: Autor

Com os resultados apresentados nesse estudo de massa para o cádmio, foram utilizadas massas próximas a 0,250 mg para os demais procedimentos relativos à quantificação desse analito nas amostras de mexilhão dourado.

### 5.3.3 Exatidão

A exatidão de um método analítico é um procedimento, que vai desde o desenvolvimento do projeto até os resultados finais, sendo que justamente os resultados alcançados é que vão determinar se o objetivo pretendido pelo método desenvolvido foi cumprido ou não <sup>16, 106</sup>.

#### 5.3.3.1 Exatidão do método para chumbo

Para o chumbo foi utilizado cerca de 0,200 mg dos CRMs: de fígado de lagosta sem remoção da gordura (LUTS-1: Non defatted lobster hepatopancreas) e de tecido de ostra (Oyster Tissue – 1566b), que foram submetidos ao programa de aquecimento otimizado para chumbo, Tabela 6, com o uso de 5 µL de Pd+Mg como modificador químico, ou seja, nas mesmas condições que as demais amostras. Para avaliar a exatidão das medidas, foi aplicado o test-t (Student) não pareado com nível de confiança de 95% <sup>112</sup>. Para aferir a precisão, foram considerados os Desvios Padrão Relativos (RSDs), sendo que RSDs menores que 10% são considerados bons de acordo com a literatura <sup>106</sup>.

A concentração de chumbo obtida foi de  $0,054 \pm 0,004$  mg/kg, com RSD de 8,3% para o LUTS – 1, e de  $0,327 \pm 0,019$  mg/kg, com RSD de 5,75% para o 1566b. Apresentou, assim, concordância de 95 % com o test-t não pareado (Tabela 10) e comprovou a eficiência do programa de aquecimento desenvolvido para a quantificação de chumbo em amostras de mexilhão dourado.

Tabela 10 - Comparação dos resultados obtidos para a quantificação (n = 3) de chumbo nos CRMs LUTS-1 e 1566b com a HR-CS GF AAS, com os valor fornecido pelo NRCC e pelo NIST

[Pb] mg/kg			
LUTS – 1		1566b	
HR-CS GF AAS	NRCC	HR-CS GF AAS	NIST
$0,054 \pm 0,004$	$0,069 \pm 0,011$	$0,327 \pm 0,019$	$0,308 \pm 0,009$

Fonte: Autor

### 5.3.3.2 Exatidão do método para cádmio

A avaliação da eficiência do programa de aquecimento desenvolvido para a quantificação de cádmio foi realizada utilizando o método de recuperação de analito. Para tanto, foram utilizados os resultados das quantificações por HR-CS GF AAS na seleção da amostra que apresentasse a menor concentração desse analito para a concha, e de outra amostra, também de menor concentração, para a parte interna.

Em seguida, foram selecionadas duas concentrações conhecidas de cádmio (12,5 e 62,5 pg) e que fossem referentes a pontos contidos na curva de calibração aquosa. Isso porque esse procedimento de recuperação do elemento analisado fundamenta-se na adição de soluções com concentrações distintas do analito pesquisado, precedida pela quantificação desse elemento adicionado. Quando a concentração do elemento pesquisado na amostrada for maior ou igual a 0,01 mg/kg, intervalos de recuperação entre 60 e 115% são julgados como satisfatórios para a validação do método criado, de acordo com a literatura <sup>113, 114</sup>.

As amostras que apresentaram menor concentração de cádmio nas quantificações por HR-CS GF AAS foram a da concha recolhida do fundo do rio e submetida à lavagem com água deionizada, e a da parte interna, também do fundo e lavada.

Os índices de recuperação ficaram entre 82,4 e 95,4%, como pode ser visto na Tabela 11, o que está de acordo com o que é proposto pela literatura <sup>113, 114</sup>.

Tabela 11 - Concentrações adicionadas e recuperadas de cádmio para exatidão do método proposto

<b>Amostra</b>	<b>Concentração de Cd adicionada (pg)</b>	<b>Concentração de Cd recuperada (pg)</b>	<b>Índice de recuperação (%)</b>
MCFL*	12,5	10,3	82,4
MCFL	62,5	59,6	95,4
MIFL*	12,5	11,7	93,7
MIFL	62,5	53,2	85,2

\*Mexilhão Dourado, Concha do Fundo Lavado

\*Mexilhão Dourado, Parte Interna do Fundo Lavado

Fonte: Autor

### 5.3.4 Determinação de chumbo e cádmio nas amostras de *Limnoperna fortunei*

#### 5.3.4.1 Quantificações de chumbo

Uma vez otimizadas as variáveis analíticas necessárias para um bom desempenho das medidas, as amostras de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) foram submetidas à HR-CS GF AAS e as concentrações de chumbo estão dispostas na Tabela 12. Os RSDs ficaram entre 0,5 e 11,5% e o limite de quantificação e de detecção foram 0,029 mg/kg e 0,009 mg/kg, respectivamente.

Tabela 12 - Concentrações de chumbo determinadas nas amostras (n = 3) de mexilhão dourado com a HR-CS GF AAS

Amostras de mexilhão dourado	[Pb] mg/kg			
	Localização			
	Margem		Fundo	
	Sem Lavar	Lavadas	Sem lavar	Lavadas
<i>Concha</i>	0,709 ± 0,004	0,382 ± 0,029	1,098 ± 0,114	0,331 ± 0,022
<i>RSD</i>	<b>0,5%</b>	<b>7,9%</b>	<b>10,4%</b>	<b>6,6%</b>
<i>Parte interna</i>	0,941 ± 0,059	0,554 ± 0,005	0,681 ± 0,078	0,381 ± 0,002
<i>RSD</i>	<b>6,3%</b>	<b>0,9%</b>	<b>11,5%</b>	<b>0,7%</b>

\*LOD = 0,009 mg/kg

\*\*LOQ = 0,029 mg/kg

Fonte: Autor

A partir dos resultados obtidos, foi possível perceber que ocorreram variações significativas nas concentrações de chumbo das amostras analisadas, principalmente aquelas que foram submetidas ao procedimento de lavagem com água deionizada. Esse processo de limpeza reduziu a quantidade de chumbo presente nas amostras de mexilhão dourado. Logo, o procedimento de lavagem pode ter promovido a lixiviação do analito de interesse,

A resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, estabelecida pelo CONAMA <sup>40</sup>, estipula como sendo 72 mg/kg de chumbo a concentração máxima para prevenção de uma possível ocorrência de contaminação em solos agrícolas por esse elemento. Essa mesma resolução também classifica como uma área contaminada aquela cujas concentrações dos elementos analisados encontrarem-se excedentes aos valores de investigação. Para chumbo, o

valor máximo permitido para solos agrícolas é de 180 mg/kg, assim, valores acima deste caracterizam uma área possivelmente contaminada. A confirmação dessa possível contaminação só será feita pelo órgão ambiental competente, por meio de análises comprobatórias.

Dessa forma, o resíduo moído do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) coletado no rio São José dos Dourados possui concentrações bem abaixo dos limites estipulados pelo CONAMA para chumbo. Isso viabiliza o desenvolvimento de estudos futuros, que visem a comprovação da eficiência da utilização do resíduo moído desses mexilhões, na correção da defasagem nutricional e da acidez em solos agrícolas.

#### 5.3.4.2 Quantificações de cádmio

Depois de estabelecidas as condições necessárias para o êxito nas determinações das concentrações de cádmio, as amostras de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) foram analisadas pela HR-CS GF AAS. A Tabela 13 expõe os resultados obtidos. Os limites de quantificação e detecção foram 0,0013 e 0,0004 mg/kg, respectivamente, e os RSDs ficaram entre 2,1 e 7,9%.

Tabela 13 - Determinações de cádmio nas amostras (n = 3) de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) por meio da HR-CS GF AAS

Amostras de mexilhão dourado	[Cd] mg/kg			
	Localização			
	Margem		Fundo	
	Sem lavar	Lavadas	Sem lavar	Lavadas
<i>Concha</i>	0,039 ± 0,003	0,031 ± 0,002	0,019 ± 0,001	0,011 ± 0,0007
<i>RSD</i>	<b>7,0%</b>	<b>5,5%</b>	<b>5,6%</b>	<b>6,7%</b>
<i>Parte interna</i>	0,356 ± 0,028	0,245 ± 0,006	0,244 ± 0,005	0,170 ± 0,009
<i>RSD</i>	<b>7,9%</b>	<b>2,3%</b>	<b>2,1%</b>	<b>5,4%</b>

Fonte: Autor

Os valores obtidos com os resultados das quantificações de cádmio demonstram que, da mesma forma que para o chumbo, ocorreram alterações relevantes nas concentrações desse elemento, especialmente nas amostras que passaram pelo processo de lavagem com água

deionizada. Como as concentrações foram reduzidas, tal procedimento pode ter ocasionado a lixiviação desse analito.

De acordo com os limites estabelecidos pelo CONAMA <sup>40</sup> na resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, as concentrações de cádmio determinadas nesta pesquisa estão bem abaixo dos valores aceitáveis por esse órgão. O valor máximo desse analito, por prevenção, é de 1,3 mg/kg e, a quantidade máxima para solos agrícolas não contaminados é de 3 mg/kg.

Portanto, as concentrações de cádmio também estão bem abaixo dos limites estipulados pelo CONAMA para esse analito, o que possibilita a realização de estudos futuros para a confirmação da eficiência da utilização do resíduo moído, do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) coletado no rio São José dos Dourados, para fins agrícolas.

#### **5.4 Determinação de alumínio, ferro e manganês por HR-CS FAAS**

A HR-CS FAAS demanda o procedimento de preparo das amostras a serem analisadas para que estas estejam compatíveis com o sistema de introdução das mesmas, o nebulizador pneumático. Então, concha e parte interna, da margem e do fundo, com e sem lavagem com água deionizada, após a liofilização da parte interna, moagem criogênica de ambas as partes e secagem das conchas, foram submetidas ao procedimento de digestão por via úmida.

As quantificações de alumínio, ferro e manganês por HR-CS FAAS foram realizadas, sequencialmente, empregando o comprimento de onda secundário para alumínio (396,152 nm), com sensibilidade de 91% e chama  $C_2H_2 - N_2O$ . Para o ferro e o manganês foram utilizadas as linhas principais, sendo para ferro (248,327 nm), com sensibilidade de 100%, e para manganês (279,4817 nm), com sensibilidade de 100% e, para ambos, a chama  $C_2H_2 - ar$ .

Para todos esses elementos, a área de integração foi equivalente a 3 pixels com o Pixel Central ( $CP \pm 1$ ), a taxa de aspiração foi fixada em 5 mL/min e a altura de observação, em 6 mm.

##### **5.4.1 Calibração**

As curvas de calibração para os elementos de interesse foram construídas a partir da diluição de soluções estoque de 1000 mg/L, com os seguintes intervalos de concentração: ferro (0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mg/L), manganês (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 mg/L) e alumínio (0,6;

2,0; 5,0; 10,0; 25,0 mg/L); o branco analítico consistiu em 1% de ácido nítrico. A Tabela 14 expõe os dados como, a equação da reta e o coeficiente de correlação linear, obtidos com essas curvas.

Tabela 14 - Dados das curvas de calibração, como equação da reta e coeficiente de correlação linear

Curvas de calibração	$y = ax + b$	R
<i>Al</i>	$y = 0,0014x + 0,0005$	0,999
<i>Fe</i>	$y = 0,0099x + 0,0012$	0,997
<i>Mn</i>	$y = 0,1466x + 0,0025$	0,999

Fonte: Autor

#### 5.4.2 Exatidão

A exatidão das quantificações realizadas com a HR-CS FAAS, foi executada com o CRM para tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976), que foi submetido ao procedimento de digestão e à análise por absorção atômica nas mesmas condições das amostras da parte interna do mexilhão dourado. Então, foram pesadas massas de aproximadamente 0,150 g desse CRM, que foram colocadas nos frascos digestores do forno de micro-ondas. Em seguida, adicionou-se alíquotas de 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> + 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 2,0 mL de H<sub>2</sub>O. Os tubos foram devidamente fechados, colocados no rotor e submetidos ao programa de aquecimento demonstrado na Tabela 4. Após a digestão, os digeridos foram transferidos para tubos falcon e avolumados até 25 mL com água destilada. Essas amostras também foram analisadas pela HR-CS FAAS, nos mesmos parâmetros e juntamente com as demais amostras de mexilhão dourado. Para os resultados do CRM, foi aplicado o test - t (Student) não pareado com nível de confiança de 95% <sup>112</sup>.

As quantidades de alumínio, ferro e manganês encontradas estão em concordância com os valores certificados ao nível de confiança de 95% do test-t não pareado. A Tabela 15 apresenta os resultados alcançados nas determinações por HR-CS FAAS comparados com aqueles fornecidos pelo NIST, o que comprova a exatidão das análises propostas neste estudo. Os RSDs foram de 6,5% para o alumínio, 0,02% para o ferro e 2,5% para o manganês.

Tabela 15 - Demonstração da exatidão dos resultados (n=3) das determinações por HR-CS FAAS com o CRM de tecido de mexilhão (Mussel Tissue – 2976)

<b>Analitos</b>	<b>HR-CS FAAS</b>	<b>NIST</b>
	<b>mg/kg</b>	
<b>Al</b>	103 ± 0,01	134 ± 34
<b>Fe</b>	168 ± 0,03	171 ± 4,9
<b>Mn</b>	33 ± 0,001	33 ± 2

Fonte: Autor

#### **5.4.3 Quantificação dos analitos nas amostras**

Com os parâmetros de análise já estabelecidos, as amostras de mexilhão dourado foram submetidas às determinações de alumínio, ferro e manganês pela HR-CS FAAS e os resultados dessa quantificação estão dispostos na Tabela 16. Os RSDs ficaram entre 0,0008 e 11,3%.

Tabela 16 - Concentrações de alumínio, ferro e manganês encontradas nas amostras de mexilhão dourado (n= 3) com a HR-CS FAAS

Amostras de mexilhão dourado	Localização				
	Margem		Fundo		
	Sem lavar	Lavadas	Sem lavar	Lavadas	
	mg/kg				
<i>Al</i> *	<i>Concha</i>	1071,62 ± 0,059	593,86 ± 0,022	1116,19 ± 0,124	476,73 ± 0,006
	<b>RSD</b>	<b>5,5%</b>	<b>3,7%</b>	<b>11,1%</b>	<b>1,3%</b>
	<i>Parte Interna</i>	2861,91 ± 0,025	2047,87 ± 0,024	1644,52 ± 0,038	1189,70 ± 0,134
	<b>RSD</b>	<b>0,9%</b>	<b>1,1%</b>	<b>2,3%</b>	<b>11,3%</b>
<i>Fe</i> **	<i>Concha</i>	721,86 ± 0,032	564,42 ± 0,045	1629,62 ± 0,124	1202,96 ± 0,028
	<b>RSD</b>	<b>0,004%</b>	<b>0,008%</b>	<b>0,002%</b>	<b>0,008%</b>
	<i>Parte interna</i>	3098,03 ± 0,024	2708,03 ± 0,040	2291,48 ± 0,054	1572,5 ± 0,171
	<b>RSD</b>	<b>0,0008%</b>	<b>0,001%</b>	<b>0,002%</b>	<b>0,02%</b>
<i>Mn</i> ***	<i>Concha</i>	139,55 ± 0,006	109,43 ± 0,004	163,61 ± 0,016	109,23 ± 0,003
	<b>RSD</b>	<b>4,6%</b>	<b>3,5%</b>	<b>9,6%</b>	<b>2,8%</b>
	<i>Parte Interna</i>	226,55 ± 0,002	161,06 ± 0,003	133,54 ± 0,003	89,95 ± 0,009
	<b>RSD</b>	<b>0,8%</b>	<b>1,8%</b>	<b>2,0%</b>	<b>0,01%</b>

\*LOD = 0,15 mg/kg e LOQ = 0,50 mg/kg

\*\* LOD = 0,050 mg/kg e LOQ = 0,15 mg/kg

\*\*\* LOD = 0,00067 mg/kg e LOQ = 0,0023 mg/kg

Fonte: Autor

Diante desses valores, é possível observar que, da mesma forma que para o chumbo e para o cádmio, o procedimento de lavagem com água deionizada pode ter ocasionado a lixiviação dos analitos de interesse, uma vez que as menores concentrações são daquelas amostras que foram submetidas a esse procedimento.

A resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, estabelecida pelo CONAMA<sup>40</sup>, não estipula um limite máximo permitido para alumínio, ferro e manganês em solos brasileiros. Entretanto, de acordo com a literatura,<sup>17, 32, 34 - 39</sup> existem valores máximos aceitáveis desses elementos para um bom desenvolvimento das plantas. Assim, alumínio e ferro acima de 1 e 100 mg/kg, respectivamente, interferem de forma prejudicial no crescimento dos vegetais, minimizando o desenvolvimento da raiz e a absorção de nutrientes, no caso do alumínio,<sup>17, 34, 35, 37</sup> e causando manchas necróticas nas mesmas, no caso do ferro<sup>32, 36, 38, 39</sup>.

Diante disso, as quantidades totais desses dois elementos ficaram acima dos valores toleráveis para o bom desenvolvimento dos cultivos agrícolas. Porém, as formas potencialmente tóxicas desses elementos são  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ , e as quantidades determinadas nessa pesquisa foram de alumínio e ferro totais. Logo, com relação às concentrações desses dois elementos, seria preciso um estudo para quantificar  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  e, com os resultados obtidos assegurar a viabilidade do resíduo moído de mexilhão dourado como corretivo nutricional e de acidez para solos, principalmente quando se tratar de solos com pH baixo.

No que diz respeito às concentrações de manganês determinadas, estas estão dentro da faixa de 1500 a 3000 mg/kg, o que pode ser considerado como micronutriente às plantas. Portanto, esse elemento contribuiria positivamente para o desenvolvimento dos cultivos agrícolas com a utilização do resíduo de mexilhão dourado <sup>17, 32, 39</sup>.

## 6 CONCLUSÕES

A utilização do resíduo moído do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) como reparador de nutrientes e de acidez em solos agrícolas tem demonstrado ser uma boa alternativa de aplicação para esse molusco bioinvasor que, desde o início de sua infestação, vem causando transtornos ambientais e econômicos nas localidades por onde se proliferou. Entretanto, por se tratar de um animal bioacumulador, antes de introduzi-lo no solo, é necessário se certificar de que este organismo não apresenta quantidades de elementos potencialmente tóxicos acima das adequadas para o bom desenvolvimento das plantas e para a não contaminação dos demais seres vivos ao longo dos níveis tróficos.

Para tanto, a HR-CS AAS, diante de suas inúmeras vantagens analíticas, como sensibilidade, reprodutibilidade, possibilidade do uso da DSS, o que gera menor quantidade de resíduos, riscos de contaminação e diminui significativamente o tempo demandado no preparo das amostras, demonstrou ser a técnica espectroanalítica ideal para as quantificações dos elementos traço chumbo e cádmio, e dos elementos alumínio, ferro e manganês. Os resultados foram exatos e precisos, com os níveis de confiança de 95%, de acordo com os procedimentos de exatidão utilizados.

As concentrações de chumbo e cádmio encontradas ficaram abaixo dos limites estabelecidos pelo CONAMA, como foi demonstrado a partir da submissão das amostras de mexilhão dourado aos programas de aquecimento desenvolvidos para a HR-CS GF AAS.

Para as quantificações de alumínio, ferro e manganês, as amostras precisaram ser submetidas a digestão ácida e analisadas pela HR-CS FAAS, o que determinou que as concentrações de manganês também estavam, de acordo com a literatura, dentro do limite considerado ideal para o crescimento das plantas, sendo possível até considerar esse elemento como um micronutriente para os vegetais, o que contribui positivamente para o emprego do resíduo moído de mexilhão dourado na agricultura. Entretanto, as quantidades de alumínio e ferro totais demonstram estar acima das julgadas, também segundo a literatura, boas ao crescimento vegetal, o que demandaria um estudo para encontrar uma forma apropriada para a determinação da concentração de  $Al^{3+}$  e  $Fe^{2+}$ , as formas tóxicas desses elementos.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se como procedimentos futuros, diante desta pesquisa desenvolvida.

- um estudo para otimizar um programa de aquecimento eficiente para a quantificação de arsênio nessas amostras de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), fazendo o uso da HR-CS GF AAS com amostragem direta de sólidos,

## REFERÊNCIAS

- 1 GONÇALVES, J. P. **O transporte marítimo como força motriz para desenvolvimento da economia mundial.** Luanda, 2012. Disponível em: <<http://www.cnc-angola.com/index.php/19-o-transporte-maritimo-como-forca-motriz-para-desenvolvimento-da-economia-mundial>>. Acesso em: 22 set. 2015.
  
- 2 AMORIM, A. et al. **Dar a Volta ao Transporte Marítimo.** Lisboa, 2000. Disponível em: <<http://www.clusterdomar.com/index.php/temas/tema-central/120-dar-a-volta-ao-transporte-maritimo>>. Acesso em: 22 set. 2015.
  
- 3 CHIARIONI, A. M. **Estudo da viabilidade da utilização de resíduo moído de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*, Dunker, 1857) como corretivo da acidez em solo canavieiro.** 2011. 62 f. TCC (Graduação em Tecnologia em Biocombustíveis) - Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, Araçatuba, 2011.
  
- 4 CARVALHO, A. C. S. de. **A água de lastro e seus riscos ambientais.** São Paulo, 2009. Disponível em <[http://www.aguadelastrobrasil.org.br/arquivos/Atividades%20e%20Projetos/cartilha%20vers%C3%A3o%201.0\\_portugu%C3%AAs.pdf](http://www.aguadelastrobrasil.org.br/arquivos/Atividades%20e%20Projetos/cartilha%20vers%C3%A3o%201.0_portugu%C3%AAs.pdf)>. Acesso em: 23 set. 2015.
  
- 5 DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. A South American bioinvasion case history: *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), the golden mussel\*. **American Malacological Bulletin**, v. 20, n. 1, p.105 - 112, 2005.
  
- 6 ANTAQ. **Meio Ambiente - Água de lastro.** Brasília, 2010. Disponível em: <[http://www.antaq.gov.br/portal/MeioAmbiente\\_AguaDeLastro.asp](http://www.antaq.gov.br/portal/MeioAmbiente_AguaDeLastro.asp)>. Acesso em: 23 set. 2015.
  
- 7 ERAFIN, I. T.; HENKES, J. A. Água de lastro: um problema ambiental. **Revista de Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 2, n. 1, p.92 - 112, 2013.
  
- 8 BRASIL. Normam – 20/2014. Norma da autoridade marítima para o gerenciamento da água de lastro de navios, **Marinha do Brasil**, 2014.

- 9 BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n. 72 de 29 de dezembro de 2009. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 2009.
- 10 BRASIL. Resolução n. 9.966, de 28 de abril de 2000. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Congresso Nacional, Brasília, DF, 28 abr. 2000.
- 11 BARBOSA, D. B. P. **Utilização do resíduo moído de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei* Dunker, 1857) como corretivo da acidez do solo e fonte de nutrientes para as plantas**. 2009. 145 f. Dissertação (Mestrado em Curso Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- 12 MARENGONI, N. G. et al. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu Binacional. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p.359 - 363, 2013.
- 13 OLIVEIRA, M. D. de et al. **Área de ocorrência do mexilhão dourado na Bacia do Alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004**. Corumbá, 2004. Disponível em: < <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC64.pdf> >. Acesso em: 24 set. 2015.
- 14 BURGER, J. et al. Metal Levels in Fish from the Savannah River: Potential Hazards to Fish and Other Receptors. **Environmental Research**, v. 89, n. 1, p.85 - 97, 2002.
- 15 VENEZUELA, T. C. **Determinação de contaminantes metálicos (metal tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de Nova Friburgo**. 2001. 96 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.
- 16 TAVARES, A. D. **Determinação de cádmio e chumbo em alimentos e bebidas industrializados por espectrometria de absorção atômica com atomização Eletrotérmica**. 2010. 98 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

- 17 MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: nutrição de plantas e fertilidade do solo**. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 1976.
- 18 FIRME, L. P.; VILLANUEVA, F. C. A.; RODELLA, A. A. Solo contaminado com cádmio: extratibilidade do metal e cinética química de degradação da matéria orgânica de torta de filtro. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p.956 - 963, 2014.
- 19 VIEIRA, L. R. et al. Toxicidade de cádmio em plantas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p.1574 - 1588, 2015.
- 20 FERREIRA, M. M. A. A. S. **Toxidez do cádmio inibe o crescimento e altera a absorção de nutrientes do girassol**. 2013. 48 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2013.
- 21 BORGES, D. L. G. **Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e investigação de compostos organometálicos por análise direta em tempo real com espectrometria de massa**. 2009. 159 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- 22 CASTRO, A. L. P. de. **Estudo de velocidades e do número de Reynolds para o descolamento dos mexilhões dourados (*Limnoperna fortunei*)**. 2013. 108 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) -Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- 23 FIORI, E. et al. Impact of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* on glyphosate concentration in water. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 81, p.106 -113, 2012.
- 24 CODESP. **Água de Lastro**. Santos, 2000. Disponível em: <<http://www.portodesantos.com.br/acoesCampanhas.php?pagina=02>>. Acesso em: 25 set. 2015.
- 25 BELZ, C. E. **Análise do risco de bioinvasão por *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): um modelo para a bacia do rio Iguaçu, Paraná**. 2006. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

- 26 SANTOS, C. P. dos; WURDIG, N. L.; MANSUR, M. C. Fases larvais do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na bacia do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p.702 - 708, 2005.
- 27 PORTELLA, K. F. et al. Biofouling e biodeterioração química de argamassa de cimento Portland em reservatório de usina hidroelétrica. **Química Nova**, v. 32, n. 04, p.1047-1051, 2009.
- 28 CALIL C.T. et al. **Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle**, Porto Alegre: Redes Editora, 2012. 414 p.
- 29 DARRIGRAN, G.; PENCHASZADEH, P; DAMBORENEA, M. C. The reproductive cycle of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae) from a neotropical temperate locality. **Journal Of Shellfish Research**, v. 18, n. 2, p.361-365, 1999.
- 30 AVELAR, W. E.; MARTIM, S. L.; VIANNA, M. P. A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal Of Biology**, v. 64, n. 4, p.739-742, 2004.
- 31 XU, M. et al. Growth, reproduction, and attachment of the golden mussel (*Limnoperna fortunei*) in water diversion projects. **Acta Ecologica Sinica**, v. 35, n. 4, p.70-75, 2015.
- 32 CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1, 2002, Via internet. **Resumos expandidos**. 2002. p. 1 – 13.
- 33 SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Árvore do conhecimento: agricultura e meio ambiente**. Brasília, 2005. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_38\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_38_210200792814.html)>. Acesso em: 25 set. 2015.
- 34 MIGUEL, P. S. B. et al. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **CES Revista**, v. 24, p 12 - 15, 2010.

- 35 BRAGA, G. N. M. **Alumínio, o Inimigo das Plantas**. Porto Alegre, 2012. Disponível em: <<http://agronomiacomgismonti.blogspot.com.br/2012/12/aluminio-o-inimigo-das-plantas.html>>. Acesso em: 27 set. 2015.
- 36 JUCOSKI, G. de O. **Toxicidade de ferro e metabolismo antioxidativo em Eugenia uniflora L.** 2011. 93 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) -Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.
- 37 GUERCIO, A. M. F.; CAMARGO, C. E. O. Herança da tolerância à toxicidade de alumínio em trigo duro. **Bragantina**, v. 70, n. 4, p.775 - 780, 2011.
- 38 ALEXANDRE, J. R. et al. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. **Natureza On Line**, p.23 - 28, 2012.
- 39 KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. Boca Raton: CRC Press, 2000. 331p.
- 40 BRASIL. Resolução n. 420, de 28 de dezembro de 2009. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasília, DF, 30 dez. 2009, p. 81 – 84
- 41 ALEXANDRINO, R. C. S. **Determinação do valor para prevenção para solos contaminados por chumbo no estado de Minas Gerais**. 2014. 147 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Ambientais e Uso da Terra) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- 42 AMORIM, F. A. C. et al. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p.1784 - 1790, 2008.
- 43 WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. Germany: WILEY – VCH, 1999.
- 44 BORGES, D. L. G. et al. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**, v. 18, p. 58 – 67, 2005.

- 45 L'VOV, B. V. The analytical use of atomic absorption spectra. **Spectrochimica Acta**, v. 17, p.761 - 770, 1961.
- 46 OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NÓBREGA, J. A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 832 - 836, 2004.
- 47 FILGUEIRAS, C. A. L. A espectroscopia e a química: da descoberta de novos elementos ao limiar da teoria quântica. **Química Nova**, n. 3, p. 22 - 25, 1996.
- 48 OLIVEIRA, S. R. **Avaliação da espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e de alta resolução no desenvolvimento de métodos analíticos para diagnóstico foliar de cana-de-açúcar e laranjeira.** 2010. 162 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- 49 BECKER-ROSS, H. et al. Continuum source atomic absorption spectrometry and detector technology: a historical perspective. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 61, p. 1015 - 1030, 2006.
- 50 WELZ, B. et al. 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.
- 51 RIELLA, G. H. **Técnicas de caracterização física e química de materiais.** Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/Pumapunko/espectroscopia-de-absoro-versus-emisso>>. Acesso em: 25 set. 2015.
- 52 JESUS, A. **Desenvolvimento de método analítico para a determinação de metais em biodiesel e óleo vegetal por espectrometria de absorção atômica com chama.** 2008. 65 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

- 53 CITAK, D.; TUZEN, M. A novel preconcentration procedure using cloud point extraction for determination of lead, cobalt and copper in water and food samples using flame atomic absorption spectrometry. **Food And Chemical Toxicology**, v. 48, p.1399-1404, 2010
- 54 ROLDAN, P. S.; KRUG, F. J.; NOBREGA, J. de A. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica empregando filamentos de tungstênio. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 25, p.58-68, 2006
- 55 KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de Absorção Atômica: Fundamentos e Atomização com Chama**, 2004.
- 56 JULIANO, V. F. **Introdução aos métodos espectroanalíticos - IV. Parte 1. Fundamentos e atomização com chama**. Slideplayer, 2011. 29 slides, color. Disponível em: <<http://slideplayer.com.br/slide/1714725/>>. Acesso em: 25 set. 2015.
- 57 HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 898 p.
- 58 DESSUY, M. B. **Investigação do comportamento de modificadores químicos para fósforo em forno de grafite usando espectrometria de absorção atômica de fonte de linha e fonte contínua de alta resolução**. 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- 59 HEITMANN, U. et al. Measurements on the Zeeman-splitting of analytical lines by means of a continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer with a linear charge coupled device array. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 51, p.1095 - 1105, 1996.
- 60 WELZ, B. et al. Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry: Past, Present and Future Aspects – A Critical Review. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 5, p.799 - 821, 2014.
- 61 SCHUETZ, M. et al. Continuum source-atomic absorption spectrometry using a two-dimensional charge coupled device. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 55, p.1895 - 1912, 2000.

62 FERREIRA, R. B. **Estratégias analíticas para determinação de fósforo em insumos agroindustriais por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução.** 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

63 LEPRI, F. G. **Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua como ferramenta analítica para o desenvolvimento de método para determinação de níquel e vanádio por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite em amostras de óleo cru.** 2005. 71 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

64 BIANCHIN, L. **Uso de modificadores químicos permanentes na determinação de cádmio em suspensão de carvão por GF AAS convencional e de alta resolução.** 2005. 69 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

65 SILVA, A. F. **Desenvolvimento de métodos para a determinação de mercúrio e tálio em amostras ambientais usando GF AAS e ETV-ICP-MS.** 2004. 124 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

66 WELZ, B. et al. Investigation of interferences in the determination of thallium in marine sediment reference materials using high-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry and electrothermal atomization. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, p. 1043 - 1055, 2002.

67 SILVA, A. F. et al. Method development for the determination of thallium in coal using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry with continuum source, high-resolution monochromator and CCD array detector. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 59, p.841 - 850, 2004.

68 VALE, M. G. R. et al. Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry In Brazil: Part 1**, v. 77, p. 131 - 140, 2004.

- 69 RIBEIRO, A. S. et al. Determination of cobalt in biological samples by line-source and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using solid sampling or alkaline treatment. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, p. 693 - 698, 2005.
- 70 LEPRI, F. G. et al. Investigation of chemical modifiers for phosphorus in a graphite furnace using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, p.934 - 944, 2006.
- 71 LEPRI, F. G. et al. Speciation analysis of volatile and non-volatile vanadium compounds in Brazilian crude oils using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, p. 195 - 200, 2006.
- 72 BIANCHIN, L. et al. Feasibility of employing permanent chemical modifiers for the determination of cadmium in coal using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 174 - 182, 2006.
- 73 BOHRER, D. et al. Determination of aluminum in highly concentrated iron samples: Study of interferences using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, p. 1012 - 1018, 2007.
- 74 DITTERT, I. M. et al. Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 64, p. 537 - 543, 2009.
- 75 LEPRI, F. G. et al. Investigation of the feasibility to use Zeeman-effect background correction for the graphite furnace determination of phosphorus using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry as a diagnostic tool. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 65, p. 24 - 32, 2010.

76 VIGNOLA, F. et al. Simultaneous determination of Cd and Fe in sewage sludge by high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sampling. **Microchemical Journal**, v. 95, p. 333 - 336, 2010.

77 BORGES, A. R. et al. Method development for the determination of cadmium in fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, p. 529 - 535, 2011.

78 ARAUJO, R. G. O. et al. Determination of mercury in airborne particulate matter collected on glass fiber filters using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sampling. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, p. 378 - 382, 2011.

79 VIRGILIO, A. et al. Evaluation of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct determination of chromium in medicinal plants. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 78, p. 58 - 61, 2012.

80 RÊGO, J. F. et al. Determination of lead in medicinal plants by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using direct solid sampling. **Talanta**, v. 100, p. 21 - 26, 2012.

81 FLÓREZ, M. R.; RESANO, M. Direct determination of bromine in plastic materials by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 88, p. 32 - 39, 2013.

82 GUNDUZ, S.; AKMAN, S. Investigation of lead contents in lipsticks by solid sampling high resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, v. 65, p. 34 - 37, 2013.

83 RESANO, M. et al. Determination of palladium, platinum and rhodium in used automobile catalysts and active pharmaceutical ingredients using high-resolution continuum

source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, p.1 - 9, 2014.

84 BORGES, A. R. et al. Investigation of spectral interferences in the determination of lead in fertilizers and limestone samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 101, p. 2013 - 2019, 2014.

85 ZAMBRZYCKA, E.; GODLEWSKA-ZYŹKIEWICZ, B. Determination of sulfur in food by high-resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 101, p.234-239, 2014.

86 ZHONG, W.; REN, T.; ZHAO, L. Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrom. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2015.

87 SILVA, A. S. et al. Direct determination of chromium in infant formulas employing high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry and solid sample analysis. **Talanta**, v. 144, p. 39 - 43, 2015.

88 GÓMEZ-NIETO, B. Fast sequential multi-element determination of major and minor elements in environmental samples and drinking waters by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 854, p. 13 - 19, 2015.

89 SEIMI, C. N.; SOARES, C.; VITORIANO, P. O. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 104 - 113, 2008.

90 SILVA, T. V. **Determinação de Sb e Pb em embalagens de poli(tereftalato) de etileno (PET) por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e de alta resolução em forno de grafite empregando amostragem direta de sólidos**. 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

- 91 BELARRA, M. A.; RESANO, M.; MOENS, L. Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, p. 828 - 839, 2002.
- 92 WELZ, B. Atomic absorption spectrometry — pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, p. 2081 - 2094, 1999.
- 93 BELARRA, M. A.; RESANO, M.; MOENS, L. Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, p. 828 - 839, 2002.
- 94 WELZ, B. Atomic absorption spectrometry — pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, p. 2081 - 2094, 1999.
- 95 SHALTOUT, A. A.; WELZ, B.; CASTILHO, I. N. B. Determinations of Sb and Mo in Cairo's dust using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Atmospheric Environment**, v. 81, p. 18 - 24, 2013.
- 96 APOLO11. **Latitude e longitude das cidades Brasileiras**. 2009. Disponível em: <[http://www.apolo11.com/latlon.php?uf=rn&ci\\_tyid=3796](http://www.apolo11.com/latlon.php?uf=rn&ci_tyid=3796)>. Acesso em: 27 set. 2015.
- 97 Environmental Protection Agency, **Method 3052**, Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices, 1996.
- 98 ENCONTRO NACIONAL SOBRE MÉTODOS DOS LABORATÓRIOS DA EMBRAPA, 8, 2003, Jaguariúna. **Resumos expandidos**. Jaguariúna: Embrapa, 2013. p. 1 – 20.
- 99 ZMOZINSKI, A. V. Direct solid sample analysis with graphite furnace atomic absorption spectrometry - A fast and reliable screening procedure for the determination of inorganic arsenic in fish and seafood. **Talanta**, v. 134, p. 224 – 231, 2015.

100 RÊGO, J. F. **Amostragem de sólidos em espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução: análise de plantas medicinais**. 2013. 160 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

101 ISMAIL, R. et al. Linearity study on detection and quantification limits for the determination of avermectins using linear regression. **Journal Of Food And Drug Analysis**, v. 22, p.407 - 412, 2014.

102 WELZ, B. et al. **High-Resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry**. Weinheim: Wiley - Vch, 2005. 295 p.

103 FRESCHI, G. P. G. et al. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química**. v. 25, p. 213-226, 2000.

104 ANJOS, A. P. Estudo de modificadores químicos e superfícies modificadas para a determinação de estanho por espectrometria absorção atômica com forno de grafite. 1997. 115 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

105 KURFURST, U. **Solid sample analysis: direct and slurry sample using GF – AAS and ETV – ICP**. Alemanha: Springer, 1998.

106 CONGRESSO E FEIRA DA QUALIDADE EM METROLOGIA, 2006, São Paulo. **Resumos expandidos**. 2006, p. 8 – 13.

107 DAMIN, I. C. F. **Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite**. 2009. 134 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

108 THOMAS, R. **PRACTICAL GUIDE TO ICP-MS: A Tutorial for Beginners**. New York: Taylor & Francis Group, 2008.

109 MONTANSER, A.; GOLIGHTLY, D. W. **Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry**. Estados Unidos: Vch Publishers, 1992

110 JARVIS, K. E.; GRAY, A. L.; HOUK, R. S. **Handbook of INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY**. New York: Blackie Academic & Professional, 1992.

111 SKOOG, D. A. **Princípios de Análise Instrumental**. São Paulo: Bookman, 2002.

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

113 BRITO, N. M. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129 – 146, 2003.

114 LOURENCETTI, C. **Resíduos de pesticidas organoclorados e bifenilas policloradas em composto de resíduos sólidos urbanos: metodologia e aplicação**. 2004. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.