

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS FORMADORES DE HIDRETOS E
MERCÚRIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS COM
AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO POR GERAÇÃO QUÍMICA DE
VAPOR ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO
ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO**

ÉDER JOSÉ DOS SANTOS

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Adilson José Curtius
Co-orientadora: Profa. Dra. Vera L. A. Frescura Bascuñan


FLORIANÓPOLIS
2007

Éder José dos Santos

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS FORMADORES DE HIDRETOS E MERCÚRIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS COM AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO POR GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

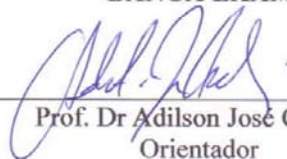
Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Doutor em Química** no **Programa de Pós-graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 10 de agosto de 2007.

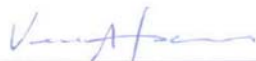


Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

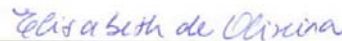
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Adilson José Curtius
Orientador



Prof. Dra Vera L. A. Frescura Bascuñan
Co-orientadora



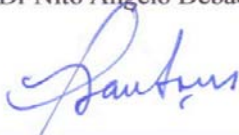
Prof. Dra Elizabeth de Oliveira
(IQ-USP)



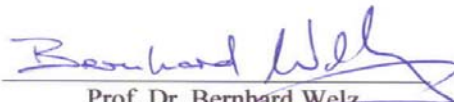
Prof. Dr. Nito Ângelo Debacher



Prof. Dra Solange Cadore
(IQ-UNICAMP)



Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza



Prof. Dr. Bernhard Welz
(UFBA)

*Ao meu filho Yan Henrique dos Santos.
“Sempre Amigos...”*

A minha irmã Tânia, que tenho certeza, sempre esteve comigo, assim como os meus amigos Rita, Sérgio e Sr Darcy.

(In memmorian)

Agradecimentos

A Deus, pela minha existência!

À minha Família, pelo incentivo e apoio.

Ao meu orientador Professor Dr Adilson José Curtius, não somente pela orientação científica, mas também pela confiança, amizade e exemplo de seriedade e ética.

À minha orientadora Professora Dra Vera L. A. F. Bascuñan, pela amizade, confiança e apoio constante durante este período.

Ao Professor Dr Bernhard Welz pela amizade, sugestões e constante disposição em colaborar.

Aos professores membros da banca examinadora, Dra Elisabeth de Oliveira, Dra Solange Cadore, Dr Ivan Gonçalves de Souza, Dr Bernhard Welz e Dr Nito Ângelo Debacher por todas as valiosas sugestões.

Aos meus amigos do laboratório de espectrometria e massa da UFSC pelo apoio, amizade e sempre pronta ajuda durante este período.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de realizar este trabalho, em especial agradecimento à Grace e ao Jadir.

Ao professor Dr Roy Eduard Bruns da UNICAMP, pelas orientações importantes da aplicação da análise fatorial, e também por sua atenção e amizade.

Ao TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná pela valiosa oportunidade de desenvolvimento do presente projeto de pesquisa.

À todos os amigos do DETEC, em especial ao Laboratório de Química Ambiental pelo apoio constante.

À Amanda, pelo companheirismo e valiosas contribuições.

Ao Natalicio, por fornecer gentilmente as amostras de sedimentos e principalmente pelo seu apoio e valiosa amizade.

Aos meus “verdadeiros amigos” que sempre acreditaram em meus ideais!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Sedimentos e o ambiente.....	1
1.2. Aspectos básicos da técnica espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)	2
1.2.1. Tipos de configuração do plasma e o sistema policromador echelle.....	6
1.2.2. Sistema de introdução de amostra no plasma.....	8
1.2.3. Interferências.....	9
1.3. Técnica da geração química de vapor (CVG) acoplada ao ICP OES.....	15
1.4. Amostragem em suspensão com geração química de vapor (CVG)	21
2. PROPOSTA DE TRABALHO	27
3. MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1. Instrumentação.....	28
3.2. Materiais e reagentes.....	31
3.3. Procedimentos de preparação das suspensões.....	32
3.3.1. Procedimentos de preparo de suspensões para a determinação de Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos.....	32
3.3.2. Procedimento de preparo de suspensões para a determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos.....	33
3.3.3. Procedimentos de preparo de suspensões para a determinação de Hg e Se em amostras biológicas.....	34
3.3.4. Procedimento de preparo de suspensões para a determinação de Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos.....	36
3.4. Procedimentos de digestão total para amostras de sedimentos e ostras	37
3.4.1. Amostras de sedimentos: determinação de Pb e Sn	37

3.4.2. Amostras de ostras: determinação de Hg e Se	37
3.5. Tratamento estatístico dos dados.....	38
3.5.1. Análise Fatorial.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1. Determinação de Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos.....	44
4.1.1. Otimização das condições instrumentais – análise fatorial.....	44
4.1.2. Parâmetros de mérito.....	46
4.1.3. Aplicação analítica.....	47
4.2. Determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos.....	51
4.2.1. Otimização das condições instrumentais – análise fatorial.....	51
4.2.2. Parâmetros de mérito.....	55
4.2.3. Influência da frequência ultra-sônica.....	55
4.2.4. Escolha do padrão interno.....	57
4.2.5. Aplicação analítica.....	59
4.3. Determinação de Hg e Se em amostras biológicas.....	62
4.3.1. Otimização das condições instrumentais – análise fatorial.....	62
4.3.2. Parâmetros de mérito.....	65
4.3.3. Aplicação analítica.....	67
4.4. Determinação de Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos.....	73
4.4.1. Otimização das condições instrumentais – análise fatorial.....	73
4.4.2. Efeito da concentração da água régia na formação do PbH_4	77
4.4.3. Investigação da geração química de vapor de outros analitos para determinação simultânea e parâmetros de mérito.....	77
4.4.4. Avaliação de íons interferentes na geração do PbH_4	78
4.4.5. Aplicação analítica.....	80
4.5. Comparação dos quatro procedimentos recomendados.....	82
5. CONCLUSÕES.....	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
7. TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O CURSO DE DOUTORADO NA UFSC.....	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático de uma tocha.....	3
Figura 2. Campo magnético induzido.....	3
Figura 3. Formação do plasma.....	4
Figura 4. Diagrama esquemático de um espectrômetro ICP OES com observação radial	5
Figura 5. Plasma com observação radial.....	6
Figura 6. Plasma com observação axial.....	6
Figura 7. Diagrama esquemático do ICP OES com observação axial, montagem echelle (Varian, Vista Pró).....	7
Figura 8. Diagrama esquemático do arranjo bidimensional do espectro produzido pela montagem echelle.....	8
Figura 9. Nebulizador pneumático concêntrico Meinhard®.....	9
Figura 10. Tipos de câmaras de nebulização: Scott e ciclônica.....	9
Figura 11. Elevação simples da radiação de fundo causado por 1000 mg L ⁻¹ do Al no comprimento de onda 207,911 nm do W	12
Figura 12. Correção automática realizada pelo software do equipamento para elevação simples da radiação de fundo causada por 1000 mg L ⁻¹ do Al no comprimento de onda 207,911 nm do W.....	12
Figura 13. Representação da radiação de fundo próxima à linha do elemento de interesse. Interferência do Al na linha do Cd em 214,438 nm.....	12
Figura 14. Correção automática realizada pelo software do equipamento para radiação de fundo próxima à linha do elemento de interesse. Interferência do Al na linha do Cd em 214,438 nm.....	13
Figura 15. Representação da coincidência total ou parcial de linhas. Interferência da Pt na linha 267,716 nm do Cr.....	13
Figura 16. Representação de radiação de fundo complexa sob a linha de interesse. Interferência do espectro do W na linha 214,438 nm do Au.	13
Figura 17. Espectro de varredura do As em matriz de café solúvel.....	14
Figura 18. Espectro de varredura do Se em matriz de café solúvel.....	14

Figura 19. Diagrama esquemático do ensaio de Gutzeit.....	15
Figura 20. Diagrama esquemático do experimento de HOLAK.....	16
Figura 21. Diagrama esquemático do sistema CVG em fluxo contínuo (Varian modelo VGA-76P).....	30
Figura 22. Sistema de produção de ozônio construído no laboratório conforme MATUSIEWICZ e MROCKOWSKA ⁷⁹ e CAPELO-MARTÍNEZ et al. ⁹²	30
Figura 23. Gráfico de Pareto para o exemplo dado.....	42
Figura 24. Gráfico de Pareto com os seguintes fatores: A, potência RF (kW); B, vazão do gás de arraste (argônio, mL min ⁻¹); C, concentração de NaBH ₄ (% m/v); D, concentração de HCl (mol L ⁻¹).....	45
Figura 25. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH ₄ (% m/v); B, concentração de HCl (mol L ⁻¹).....	54
Figura 26. Posição dos tubos dentro do banho nos sistemas de ultra-som para (a) Odontobrás, modelo 1440 DA e (b) Thorton, modelo USC-2850A.....	56
Figura 27. Efeito do Ge(IV) em 219,871 nm, como padrão interno, na determinação de As e Se na amostra de referência certificada SRM 2702.....	59
Figura 28. Formas mais comuns do As em amostras biológicas.....	61
Figura 29. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH ₄ (% m/v); B, concentração de HCl (mol L ⁻¹).....	64
Figura 30. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH ₄ (% m/v); B, concentração de ácido tartárico (% m/v) e C, concentração de (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	75
Figura 31. Avaliação da influência da concentração da água régia na geração do PbH ₄ em soluções contendo 50 µg L ⁻¹ de Pb(II) em (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ 10% m/v.....	77
Figura 32. Avaliação da influência da concentração dos elementos Cu, Mn e Zn na geração do plumbano em soluções contendo 50 µg L ⁻¹ de Pb(II) em (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ 10% m/v e água régia 2% v/v.....	79
Figura 33. Avaliação da influência da concentração dos elementos Al, Fe, K e Si na geração do plumbano em soluções contendo 50 µg L ⁻¹ de Pb(II) em (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ 10% m/v e água régia 2% v/v.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aplicações da amostragem em suspensão relatados por MATUSIEWICZ ⁵⁵ no período de 1988 a 2003 ⁵⁴⁻⁸¹	26
Tabela 2. Parâmetros instrumentais do ICP OES e sistema de geração química de vapor.....	29
Tabela 3. Exemplo da matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas.....	39
Tabela 4. Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas: efeito da interação do HCl e NaBH ₄ na intensidade de emissão.....	40
Tabela 5. Dados completos do presente exemplo da matriz de planejamento.....	41
Tabela 6. Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas na determinação de Hg por CVG - ICP OES em 253,652 nm.....	45
Tabela 7. Parâmetros de mérito para os cinco procedimentos de preparo das suspensões. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões para o Hg na faixa de concentração de 0,5-10 µg L ⁻¹ . LOD para 3 s e n = 10.....	47
Tabela 8. Concentrações obtidas, em µg g ⁻¹ , de Hg nas amostras de referência certificadas com amostragem em suspensão e filtrados, n=3.....	48
Tabela 9. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significativas na determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn por CVG – ICP OES.....	53
Tabela 10. Parâmetros de mérito para As, Hg, Sb, Se e Sn. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões com 0,5 a 10 µg L ⁻¹ de Hg(II), Sb(III), Se(IV) e 10 a 100 µg L ⁻¹ de As(III) e Sn(IV), LOD para 3s e n = 10.....	55
Tabela 11. Concentrações obtidas, em µg g ⁻¹ , nas suspensões e filtrados com 40 kHz e 25 kHz (n = 24).....	56
Tabela 12. Concentrações, em µg g ⁻¹ , obtidas com a utilização do Ge(IV) e Bi(III) como padrão internos para a determinação de As e Se na amostra de sedimento marinho SRM 2702, n=3.....	58

Tabela 13. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de As, Hg, Sb, Se e Sn nas amostras de sedimentos, com calibração externa e padronização interna com Ge(IV) para As e Se, n=3.....	59
Tabela 14. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de As, Hg, Sb, Se e Sn nas amostras de sedimentos, coletados em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, n=3.....	60
Tabela 15. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significantes na determinação de Hg e Se por CVG - ICP OES.....	63
Tabela 16. Parâmetros de mérito para os cinco meios diferentes das suspensões. As curvas de calibração foram obtidas para o Hg(II) e Se(IV) na faixa de concentração de 0,5-10 $\mu\text{g L}^{-1}$. LOD para 3 s e n = 10.....	66
Tabela 17. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se na amostra de referência certificada TORT-2, através dos sete procedimentos de preparação das suspensões, n=3.....	69
Tabela 18. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se em amostras biológicas de referência certificadas, através do Procedimento 5 de preparação das suspensões, n=3.....	70
Tabela 19. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se nos filtrados das amostras de referência certificadas, através do Procedimento 5 de preparação das suspensões, n=3.....	71
Tabela 20. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Se nas amostras reais de ostras, n=3.....	71
Tabela 21. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significativas na determinação de Pb por CVG - ICP OES.....	74
Tabela 22. Parâmetros de mérito para As, Hg, Sb, Pb e Sn. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões para Hg(II) (0,5 a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$), Sn(IV) (5 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) e As(III), Sb(III) e Pb(II) (10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). LOD para 3 s e n = 10.....	78
Tabela 23. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Pb e Sn nas suspensões e filtrados, n=3.....	80

Tabela 24. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Pb e Sn nas amostras de sedimentos, coletados em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, na suspensão e digestão ácida total, n=3.....	81
Tabela 25. Parâmetros de mérito dos procedimentos recomendados.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (inductively coupled plasma optical emission spectrometry)

RF: Radiofrequência

CCD: Dispositivo de carga acoplada (charge-coupled device)

CVG: Geração química de vapor (chemical vapor generation)

AAS: Espectrometria de absorção atômica (atomic absorption spectrometry)

CVG-ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com geração química de vapor (inductively coupled plasma optical emission spectrometry with chemical vapor generation)

F AAS: Espectrometria de absorção atômica com chama (flame atomic absorption spectrometry)

ET AAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (electrothermal atomic absorption spectrometry)

CVG-ET AAS: Espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor e atomização eletrotérmica (chemical vapor generation electrothermal atomic absorption spectrometry)

AFS: Espectrometria de fluorescência atômica (atomic fluorescence spectrometry)

ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (inductively coupled plasma mass spectrometry)

CVG-ETV-ICP-MS: Geração química de vapor com retenção no vaporizador eletrotérmico acoplado a ICP-MS (chemical vapor generation electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry)

FI-CVG-ICP-MS: Geração química de vapor em sistema de injeção em fluxo acoplado a ICP-MS (flow injection with chemical vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry)

MIP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por microondas (microwave induced plasma optical emission spectrometry)

LOD: Limite de detecção (limit of detection)

LOQ: Limite de quantificação (limit of quantification)

RSD: Desvio padrão relativo (relative standard deviation)

RESUMO

O desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de elementos formadores de hidretos e mercúrio em amostras ambientais e biológicas, com amostragem em suspensão, por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com observação axial após geração química de vapor em linha (CVG-ICP OES) é apresentado. Inicialmente, cinco procedimentos diferentes de preparo de suspensões foram avaliados somente para a determinação de Hg por CVG-ICP OES. As concentrações de HCl e NaBH₄ e os parâmetros instrumentais: potência da fonte de radiofrequência e vazão do gás de arraste, foram otimizadas através da análise fatorial empregando-se uma solução padrão de Hg. Os cinco procedimentos foram aplicados a 11 amostras ambientais e biológicas, sendo analisadas as suspensões e os filtrados. O procedimento que utilizou água régia e 30 min de ultra-som, com limite de quantificação de 0,12 µg g⁻¹ foi o mais adequado, com precisão (RSD ≤ 12,5%) e exatidão (teste t, 95% de confiança) aceitáveis.

Este mesmo procedimento, mas com a adição de 50 µg L⁻¹ de Ge(IV), foi então aplicado para a determinação simultânea do As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos. O Ge(IV) foi empregado como padrão interno para o As e Se. As concentrações do NaBH₄ e HCl foram otimizadas através da análise fatorial empregando-se uma solução padrão dos analitos e uma suspensão de uma amostra de referência certificada de sedimento. Dois sistemas de ultra-som com diferentes frequências (25kHz e 40kHz) foram testados, sendo o de maior potência adotada por promover com maior eficiência a extração dos analitos para a fase líquida. Os valores obtidos para os limites de quantificação foram, em µg g⁻¹: 0,75 (As); 0,12 (Hg); 0,40 (Sb); 0,12 (Se) e 12 (Sn). Os resultados obtidos para quatro amostras de referência de sedimentos apresentaram boa concordância com os valores certificados (teste t, 95% de confiança) com desvios padrão relativos aceitáveis (RSD ≤ 18%). O procedimento também foi aplicado na análise de nove amostras reais de sedimentos.

Para a determinação simultânea do Hg e Se em amostras biológicas, foram avaliados sete procedimentos diferentes. As concentrações de HCl e NaBH₄ foram

otimizadas através da análise fatorial empregando-se soluções padrão dos analitos nos diferentes meios das suspensões. Os sete procedimentos foram inicialmente aplicados a uma amostra de referência e todos produziram resultados para o Hg em concordância com o valor certificado. Entretanto, no caso do Se, apenas o procedimento que emprega H_2O_2 e o procedimento que emprega $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, apresentaram resultados em boa concordância com o valor certificado. Este último, com limites de quantificação de $0,15 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hg) e $0,21 \mu\text{g g}^{-1}$ (Se), foi adotado e aplicado na análise de cinco amostras biológicas de referência e seis amostras de ostras coletadas em Florianópolis-SC. As concentrações de Hg e Se foram concordantes com os valores certificados (teste t, 95% de confiança) com aceitável precisão ($\text{RSD} \leq 19\%$).

Para a determinação do Pb em sedimentos e lodos, as amostras foram tratadas com água régia em um banho de ultra-som por 60 min, e então diluídas a 50 mL com $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v. As concentrações de NaBH_4 , ácido tartárico e $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, foram otimizadas através da análise fatorial, utilizando-se soluções padrão aquosas e suspensões de uma amostra de referência certificada. Verificou-se que vários elementos concomitantes presentes em matrizes de sedimentos não afetam o sinal do Pb, sendo o limite de quantificação de $9,0 \mu\text{g g}^{-1}$. Entre os elementos pesquisados, o Sn foi o único possível de ser determinado satisfatoriamente com o Pb, com limite de quantificação de $2,1 \mu\text{g g}^{-1}$. A determinação dos analitos foi realizada em seis amostras de referência, sendo analisadas as suspensões e os filtrados. Os valores obtidos para o Pb e Sn nas suspensões foram concordantes com os valores certificados (teste t, 95% de confiança). Nove amostras reais de sedimentos, coletadas na bacia do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, foram analisadas e apresentaram os resultados similares (teste t emparelhado, 95% de confiança) com os obtidos após digestão total.

Os procedimentos recomendados são simples, rápidos e robustos, com precisão e exatidão aceitável. As calibrações foram realizadas através da utilização de soluções padrão aquosas no mesmo meio das suspensões, sendo adequadas, portanto, para a determinação de As, Hg, Pb, Sb, Se e Sn por CVG-ICP OES com amostragem em suspensão.

ABSTRACT

The development of analytical methods for the determination of hydride-forming elements and mercury in environmental and biological samples, with slurry sampling, by axial viewing inductively coupled plasma optical emission spectrometry after on-line chemical vapor generation (CVG-ICP OES) is described. Initially, five different slurry preparation procedures were tested only for the determination of Hg by CVG-ICP OES. The concentrations of HCl and NaBH₄, and the instrumental parameters: plasma radiofrequency power and carrier gas flow rate were optimized using a multivariate factorial analysis, with an aqueous standard solution of Hg. The five procedures were applied to 11 biological and environmental materials, being analyzed the slurries and the filtrates. The procedure that used aqua regia and 30 min of ultrasonic bath, with limit of quantification of 0.12 µg g⁻¹, is recommended, with acceptable accuracy (t-test, 95% of confidence level) and precision (RSD ≤ 12,5%).

This procedure, with addition of 50 µg L⁻¹ of Ge(IV), was used for the simultaneous determination of As, Hg, Sb, Se and Sn in sediments. Ge(IV) was used as internal standard for As and Se. The concentrations of NaBH₄ and HCl used for the chemical vapor generation were optimized by factorial analysis, using a standard solution of the analytes and a slurry of a sediment certified reference material. Two ultrasonic systems with two different frequencies (25 kHz and 40 kHz) were tested, the more powerful one being adopted, since it provided more efficient analyte extraction to the liquid phase. The limits of quantification, in µg g⁻¹, were: 0.75 (As), 0.12 (Hg), 0.40 (Sb), 0.12 (Se) and 12 (Sn). The results for four sediment certified reference materials were in agreement with the certified values (t-test, 95% of confidence level) with acceptable relative standard deviation (RSD ≤ 18%). The procedure was used to analyse nine real sediments samples.

For the simultaneous determination of Hg and Se in biological samples, seven slurry preparation procedures were evaluated. The concentrations of HCl and NaBH₄, used in the chemical vapor generation, were optimized by factorial analysis, using aqueous standard solutions of the analytes in the different slurry media. The seven procedures were applied initially to only one certified material

and all of them produced results for Hg in agreement with the certified value. However, for Se, results in agreement with the certified value were obtained only when the procedure with H_2O_2 and the procedure with $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ were used. This last procedure, with limit of quantification of $0.15 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hg) and $0.21 \mu\text{g g}^{-1}$ (Se), was adopted and applied to the analysis of five biological certified reference materials and six oysters samples that were collected in Florianópolis-SC. The obtained Hg and Se concentrations were in agreement with the certified values (t-test, 95% of confidence level) with acceptable precision ($\text{RSD} \leq 19\%$).

For the determination of Pb in sediments and sewage sludge, the samples were treated with aqua regia in an ultrasonic bath for 60 min, and then the slurry was completed to a final volume of 50 mL with a 10% m/v solution of $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. The concentrations of NaBH_4 , tartaric acid and $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, used for the on-line plumbane generation, were optimized through a factorial analysis applied to aqueous standard solutions and to the slurries of a sediment certified reference material. Several major concomitants present in the sediment matrix were tested and did not influence the Pb signal, the limit of quantification being $9.0 \mu\text{g g}^{-1}$. Tin was the only other hydride-forming analyte that could be determined satisfactorily together with Pb, with a limit of quantification of $2.1 \mu\text{g g}^{-1}$. The determination of the analytes was made in six certified reference materials, being analyzed the slurries and the filtrates. The values obtained for Pb and Sn in the slurries were in agreement with the certified values (t-test, 95% of confidence level). Nine real river sediments collected in Iguaçu River bay, Curitiba-PR, were analyzed and the concentrations were in agreement (paired t-test, 95% of confidence level) with results found after total digestion.

The recommended procedures are simple, rapid and robust, with acceptable precision and accuracy. The calibrations were carried out using aqueous solutions in the same medium as the slurry, being adequate, therefore, for determination of As, Hg, Pb, Sb, Se and Sn by CVG-ICP OES using slurry sampling.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sedimentos e o ambiente

O elevado desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas com o consequente aumento da produção de resíduos, efluentes e emissões atmosféricas, tem sido um dos principais responsáveis pela contaminação de nossa água, solo e ar. Além disto, a negligência na disposição final e acidentes cada vez mais frequentes propiciam o lançamento de muitos poluentes no ambiente.¹

O destino final destes poluentes é a deposição e soterramento em solos e sedimentos além da bioacumulação em muitos organismos vivos. No solo, normalmente, elementos químicos, tais como Cd, Hg, Pb, entre outros, acumulam-se na camada superior, sendo então acessíveis para as raízes das plantas. As vias de retenção são: (I) adsorção sobre as superfícies das partículas minerais; (II) complexação pelas substâncias húmicas das partículas orgânicas e (III) por reações de precipitação. Já os sedimentos, que são camadas de partículas minerais e orgânicas, com frequência, finamente granuladas, se encontram em contato com a parte inferior dos corpos de água natural, como lagos, rios e oceanos. Estes possuem uma grande capacidade para acumular os contaminantes, mesmo quando presentes em baixíssimas concentrações, por isso são amplamente utilizados como indicadores ambientais para rastrear e monitorar fontes de contaminação.^{1,2}

A bioacumulação é o fenômeno através do qual os organismos vivos retêm, dentro de si, substâncias tóxicas sem conseguir eliminá-las. Por exemplo, ostras e mexilhões podem conter níveis de Hg e Cd cem mil vezes maior que os das águas nas quais vivem. Assim, mesmo que o organismo viva em um ambiente pouco poluído, ele pode, ao longo de sua vida, acumular os poluentes, além do risco que podem causar à saúde humana quando consumidos como alimentos.^{1,2} Neste contexto, o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e sensíveis para a determinação de elementos traço e contaminantes em amostras ambientais e biológicas, são importantes para o monitoramento ambiental e entre as técnicas instrumentais mais utilizadas para este fim, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), apresenta-se como uma ferramenta

bastante útil, principalmente devido à sua capacidade de determinação multielementar dos elementos com razoável sensibilidade.

1.2. Aspectos básicos da técnica espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, ICP OES, é uma técnica analítica que pode ser utilizada para determinação de elementos maiores, menores e em níveis de traço baseada nos espectros de emissão óptica dos elementos. Resultados analíticos são obtidos, na prática, para aproximadamente 70 elementos, com limites de detecção (LOD) geralmente alcançando níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo a maioria das amostras introduzidas na forma líquida, como soluções aquosas.^{3,4}

O sucesso da técnica é devido principalmente à capacidade da realização de uma análise multielementar e à determinação em uma faixa ampla de concentrações dos elementos em uma mesma amostra. A alta temperatura e a atmosfera inerte do gás argônio do plasma também diminuem as interferências não espectrais, resultando em boa sensibilidade, precisão e exatidão.⁴

Um plasma é um gás parcialmente ionizado, composto por elétrons, íons e átomos, sendo que mais de 1% do total de átomos do gás estão ionizados. O plasma com acoplamento indutivo forma-se numa tocha de quartzo (Figura 1), constituída por três tubos concêntricos com entradas independentes de gás. O fluxo de argônio que flui tangencialmente entre o tubo exterior e o intermediário é o gás refrigerante ou “gás do plasma” que atua para formar o plasma e prevenir o aquecimento excessivo da tocha. No tubo intermediário ocorre o fluxo de “gás auxiliar”, e juntamente com o “gás do plasma”, são semeados com elétrons por meio de uma bobina tesla. O tubo central é o que conduz a amostra em forma de aerossol para dentro do plasma, impulsionado por um terceiro fluxo de argônio, denominado gás de arraste.³⁻⁶

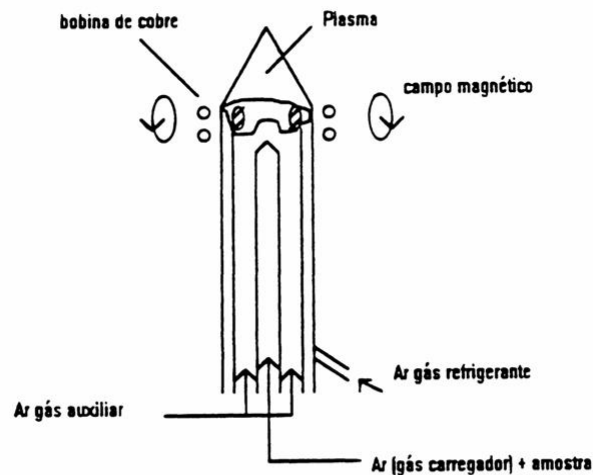


Figura 1. Diagrama esquemático de uma tocha.³

A energia para formação e manutenção do plasma é proporcionada pela fonte externa geradora de radiofrequência (RF), a qual induz um campo magnético oscilante com linhas de força (H) orientadas axialmente à tocha (Figura 2). Os primeiros elétrons são obtidos pela centelha gerada através da bobina tesla, e a ação do campo magnético permite a aceleração dos elétrons em trajetórias perpendiculares ao campo, descrevendo uma helicóide. O campo magnético é oscilante por ser induzido por uma corrente alternada RF, isto leva à aceleração dos elétrons e íons em contra fluxo em ambos os sentidos, facilitando a transferência de energia cinética para os átomos, produzindo ionização e um grande número de elétrons, entrando em um processo de cascata, até atingir o equilíbrio dinâmico (Figura 3).³⁻⁶

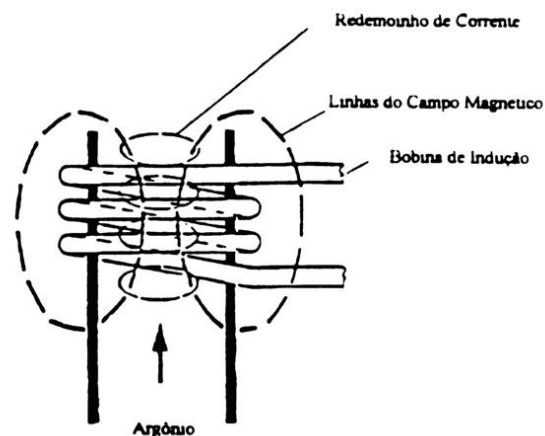


Figura 2. Campo magnético induzido.³

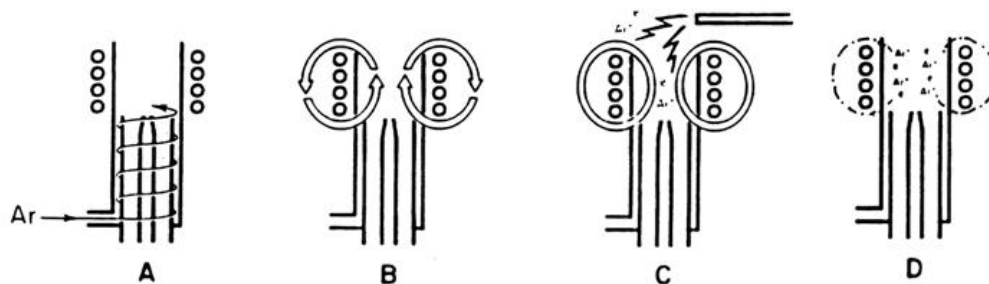


Figura 3. Formação do plasma: **A** - gás argônio entrando tangencialmente na tocha; **B** - corrente RF é aplicada na bobina; **C** - uma faísca produz alguns elétrons livres no Ar; **D** - os elétrons são acelerados pelo campo magnético causando ionização e formando o plasma.³

A amostra, em solução, é introduzida no plasma em forma de aerossol por meio de um sistema nebulizador. A primeira função da alta temperatura do plasma é a remoção do solvente através da evaporação, deixando partículas microscópicas sólidas (sais dos elementos constituintes da amostra). A etapa seguinte envolve a volatilização-dissociação, com a produção de vapores atômicos-vapores iônicos, os quais são excitados na forma de átomos-íons. O mecanismo de excitação é por colisão, no qual a energia cinética das espécies que colidem (íons-átomos da amostra com elétrons-íons do argônio) se transforma em todo ou em parte em energia de excitação e haverá passagem de elétrons dos íons-átomos da amostra, do nível fundamental ou de menor energia, para um nível de maior energia, formando assim as espécies excitadas. A tendência dos elétrons é de retornarem ao estado fundamental e ao fazerem-no, devolvem a energia na forma de emissão de radiação eletromagnética, na qual os comprimentos de onda são característicos de cada elemento e a intensidade da linha do espectro de emissão é proporcional à concentração do elemento sob análise. O espectro de emissão contém todas as linhas emitidas pela amostra. A radiação passa através de uma fenda e incide em um sistema ótico (monocromador ou policromador), que dispersa a radiação em linhas, e as de interesse, são enviadas para a foto-multiplicadora (ou para um detector do estado sólido CCD) representada na Figura 4.³⁻⁶

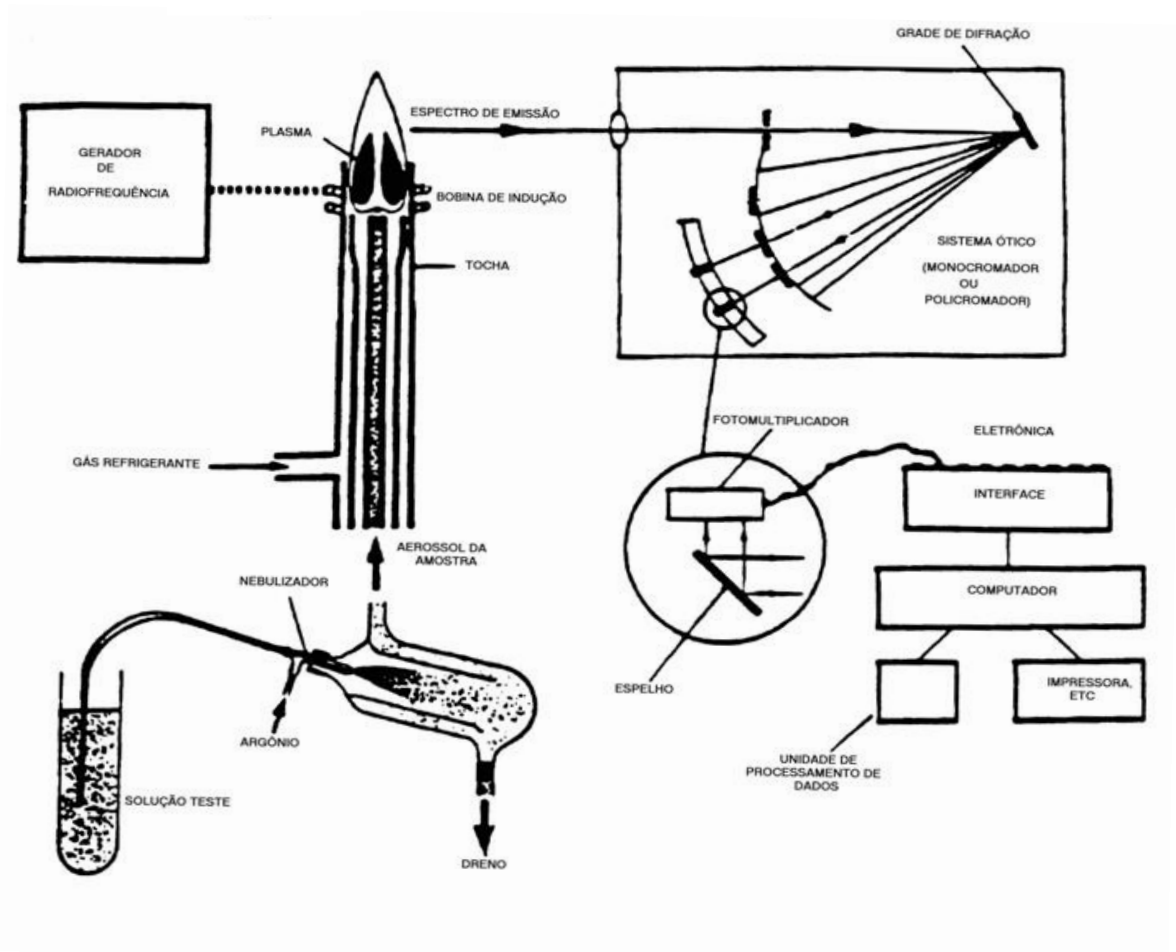


Figura 4. Diagrama esquemático de um espectrômetro ICP OES com observação radial.⁶

1.2.1. Tipos de configuração do plasma e o sistema policromador echelle

A técnica ICP OES, inicialmente descrita por GREENFIELD, JONES e BERRY⁷ e concomitantemente por WENDT e FASSEL⁸, apresentava o equipamento com a observação radial (Figura 5), ou seja, o espectro de emissão da amostra sendo direcionado ao espectrômetro com um ângulo de 90° a partir do canal central do plasma (Figura 4).⁶



Figura 5. Plasma com observação radial.⁶

A partir da década de 90, após propostas inicialmente relatadas por ABDALLAH et al.⁹, e mais tarde por LICHTÉ e KOIRTYOHANN¹⁰, DEMERS¹¹, KORNBLUM e DANIELSSON¹² e FAIRES et al.¹³, foram introduzidos comercialmente equipamentos com a observação axial (Figura 6) os quais permitem uma melhora de até cem vezes nos limites de detecção, refletindo no crescimento de aplicações, principalmente na área de controle de poluição ambiental.^{14,15}

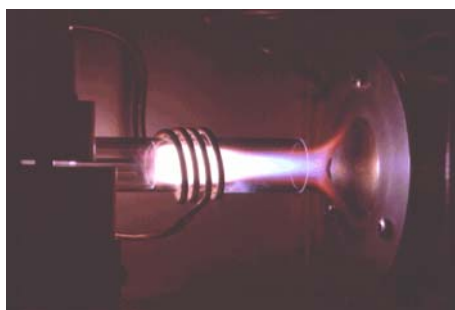


Figura 6. Plasma com observação axial.¹⁵

A maioria destes equipamentos utiliza o policromador denominado “echelle”, o qual é constituído de dois dispositivos de dispersão, um prisma e uma rede (echelle) (Figura 7). Estes dois dispersores são posicionados perpendicularmente, assim, a radiação emitida pelo argônio e pela amostra no plasma é inicialmente separada pela rede de difração (~95 linhas/mm), produzindo um espectro complexo de várias ordens de comprimentos de ondas sobrepostos, em seguida, o segundo componente óptico, normalmente um prisma, produz um arranjo bidimensional do espectro, denominado “echelograma” apresentando os comprimentos de onda em uma direção e as ordens espectrais na outra, como apresentado na Figura 8.³⁻⁵

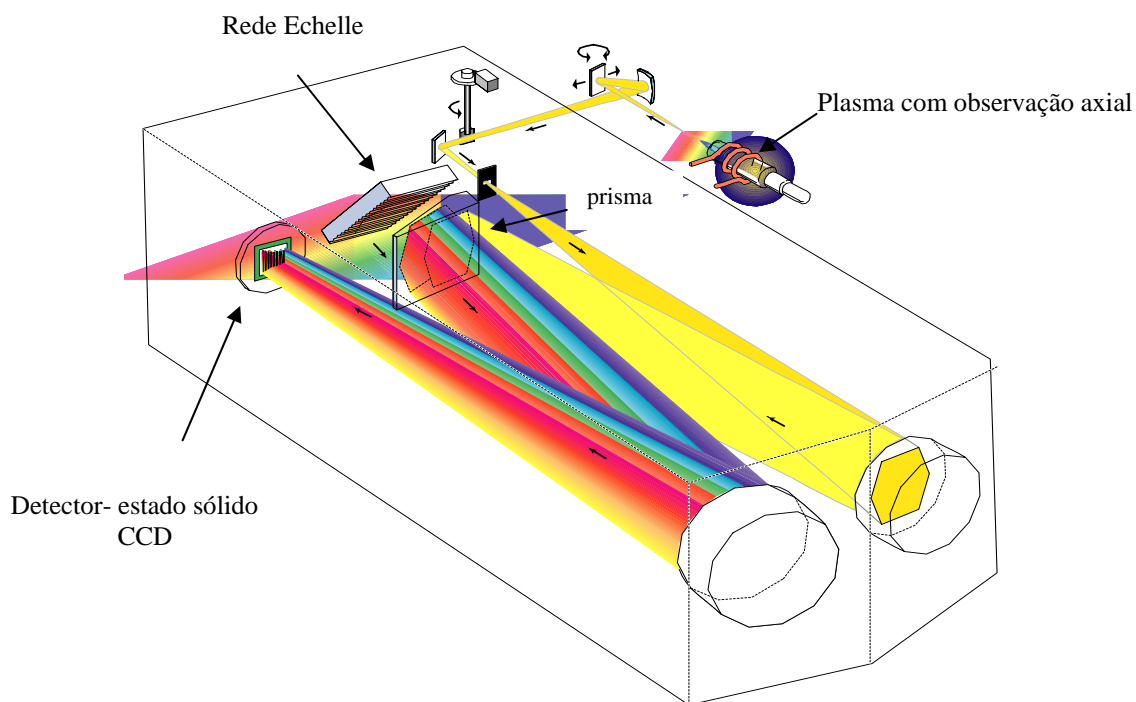


Figura 7. Diagrama esquemático do ICP OES com observação axial, montagem echelle (Varian, Vista Pró).¹⁵

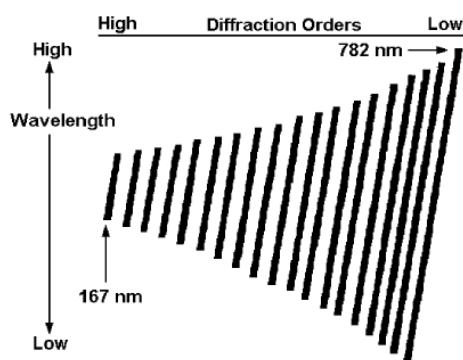


Figura 8. Diagrama esquemático do arranjo bidimensional do espectro produzido pela montagem echelle.⁴

Assim, a montagem echelle, permite alta resolução e excelente estabilidade possibilitando a determinação simultânea dos elementos em pouco tempo.³⁻⁵

1.2.2. Sistema de introdução de amostra no plasma

A forma mais comum da amostra a ser introduzida no plasma é a líquida, quando é utilizado um sistema constituído por uma câmara de nebulização e um nebulizador.

Os nebulizadores utilizados podem ser classificados em: *pneumáticos* (concêntrico, Babington, V-groove, fluxo cruzado) e *ultra-sônicos*. Os nebulizadores do tipo *pneumático* funcionam como aspiradores da solução da amostra através do efeito Venturi³, conseguido através da configuração apropriada entre a entrada da amostra e um fluxo de gás argônio (Figura 9). A amostra na forma de aerossol, após passar pelo nebulizador, vai para a câmara de expansão ou nebulização (Figura 10), a qual permite que somente gotículas menores que 10 μm de diâmetro alcancem o plasma. O diâmetro médio é ao redor de 2 μm e gotículas deste tamanho permitem eficiente vaporização e excitação da amostra durante o tempo de residência no plasma (3-5 milissegundos).³ Entre as desvantagens destes nebulizadores, pode-se citar a variação da taxa de aspiração da amostra pela viscosidade da mesma e o bloqueio provocado por partículas sólidas em suspensão.^{3,4} Em análises de rotina, o nebulizador pneumático concêntrico

Meinhard[®] conectado em uma câmara de nebulização do tipo Scott ou, mais atualmente, em uma câmara ciclônica é o mais utilizado. O nebulizador do tipo *ultra-sônico* consiste em uma membrana ou cristal piezelétrico, que vibra com frequência na faixa do ultra-som. A solução da amostra escorre sobre esta membrana ou cristal e por efeito de cavitação forma um fino aerossol, sendo que uma pequena vazão de gás de arraste é utilizada para transportar a amostra ao plasma.^{3,4}

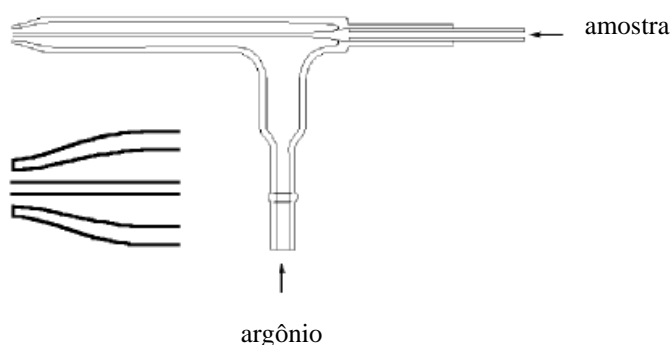


Figura 9. Nebulizador pneumático concêntrico Meinhard[®].⁴

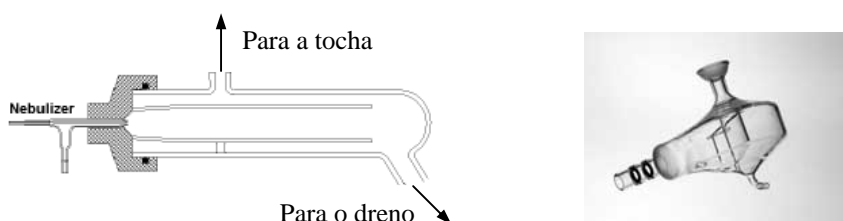


Figura 10. Tipos de câmaras de nebulização: Scott e ciclônica.⁴

1.2.3. Interferências

As interferências em ICP OES são classificadas em “espectrais” e “não espectrais”.¹⁶

As interferências “não espectrais” podem ser identificadas através de uma mudança na inclinação da curva de calibração, pela presença da matriz. Podem ser classificadas em: de transporte e condições de excitação da amostra no plasma.

As interferências não espectrais de transporte são as mais importantes. Estas são causadas por mudanças nas propriedades físico-químicas da amostra (viscosidade, densidade e tensão superficial), devidas à presença de sais dissolvidos e/ou solventes e/ou reagentes os quais levam a alteração na taxa de introdução das soluções no plasma (vazão de aspiração e nebulização da amostra).^{3,5,16} As interferências não espectrais devidas às condições de excitação da amostra no plasma afetam as condições de equilíbrio e são mais pronunciadas em determinadas configurações de alguns equipamentos, sendo minimizadas pela aplicação de adequados valores da potência da RF.

As interferências “não espectrais” podem ser minimizadas e/ou eliminadas através de diferentes estratégias:

(I) Matrização: em amostras que apresentam matriz constante, a preparação de soluções padrão contendo composição a mais similar possível com a da matriz da amostra (matrix matching), é uma alternativa. Este procedimento pode ser usado apenas se os elementos de interesse encontram-se na solução da amostra em concentrações acima de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, por causa do aumento da radiação de fundo provocado pela matriz, que prejudica os limites de detecção;⁵

(II) Diluição da amostra: em amostras com teor de sólidos dissolvidos muito alto, acima de 4% m/v, deverá ser realizada uma diluição para não provocar entupimentos no nebulizador e na tocha;

(III) Separação química: no caso de baixas concentrações, é mais eficiente o uso de um procedimento de separação de matriz. No caso de amostras contendo material orgânico recomenda-se emprego de maior potência de RF e uso de uma mistura de argônio e oxigênio como gás de nebulização, de forma a melhorar a combustão e evitar fuligem;^{3,5}

(IV) Uso de padrões internos: este procedimento requer a análise prévia da amostra e a adição de uma concentração conhecida do padrão interno. Este deve ser um elemento que não esteja presente na amostra, ou em concentração não detectável quando se utiliza à razão de intensidades entre a linha espectral do elemento de interesse e a escolhida para o padrão interno;^{5,17-19}

(V) Adição do analito: esta técnica consiste em efetuar adição de concentrações conhecidas dos elementos a serem determinados na solução da amostra. As concentrações adicionadas devem provocar um aumento de duas ou três vezes no sinal original dos elementos de interesse, requerendo uma análise prévia semiquantitativa da amostra.^{3,5,16}

A interferência “espectral” ocorre quando outras espécies presentes na amostra apresentam linhas espectrais próximas ou coincidentes a do elemento em determinação. O valor da intensidade medida será maior, resultando em uma concentração aparente maior que a real. Está diretamente relacionada com o poder de resolução do espectrômetro e torna-se tão menos significativa quanto melhor for a resolução.³ Os principais tipos são: (I) Elevação simples da radiação de fundo (background), Figuras 11 e 12; (II) Inclinação da radiação de fundo próxima à linha do elemento de interesse, Figuras 13 e 14; (III) Coincidência total ou parcial de linhas, Figura 15, e (IV) Radiação de fundo complexa sob a linha de interesse, Figura 16.⁴

Para eliminar ou corrigir estas interferências se faz uma separação química do elemento interferente ou se escolhe um comprimento de onda alternativo. Eventualmente, correções matemáticas também podem ser empregadas, quando é medido o sinal de soluções padrão do elemento interferente no comprimento de onda do analito. Calculam-se os parâmetros da curva que relaciona a intensidade aparente do analito em função do elemento interferente. A razão entre o coeficiente angular desta curva e o coeficiente angular da curva de calibração do analito, sem o interferente, é o fator de correção.³

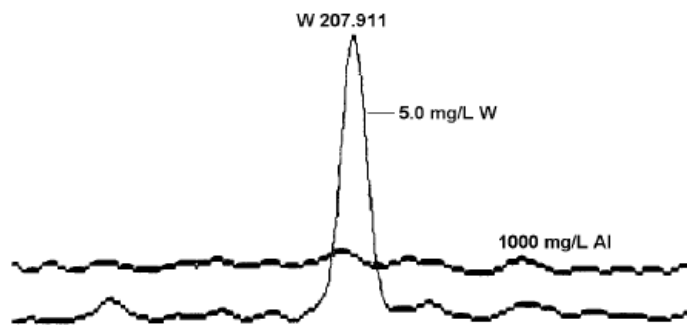


Figura 11. Elevação simples da radiação de fundo causado por 1000 mg L^{-1} do Al no comprimento de onda 207,911 nm do W.⁴

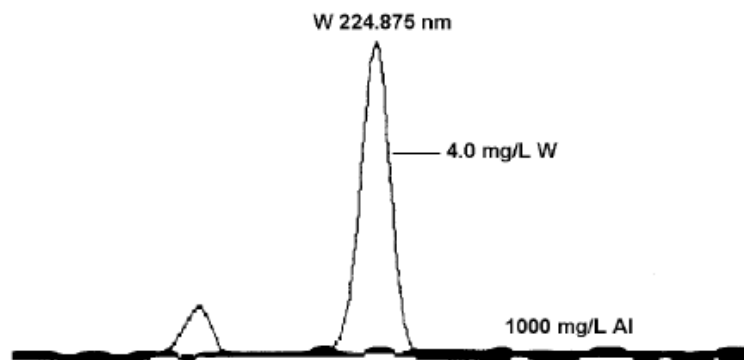


Figura 12. Correção automática realizada pelo software do equipamento para elevação simples da radiação de fundo causada por 1000 mg L^{-1} do Al no comprimento de onda 207,911 nm do W.⁴

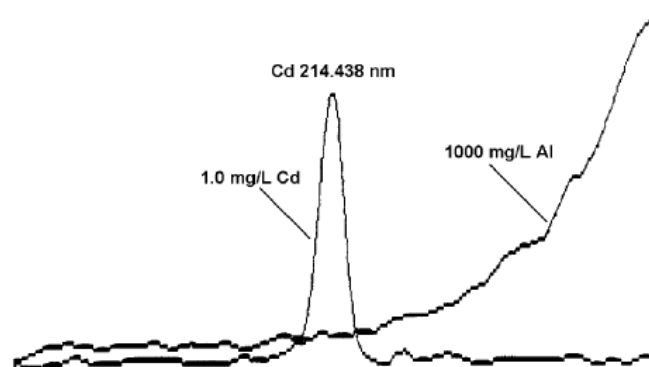


Figura 13. Representação da radiação de fundo próxima à linha do elemento de interesse. Interferência do Al na linha do Cd em 214,438 nm.⁴

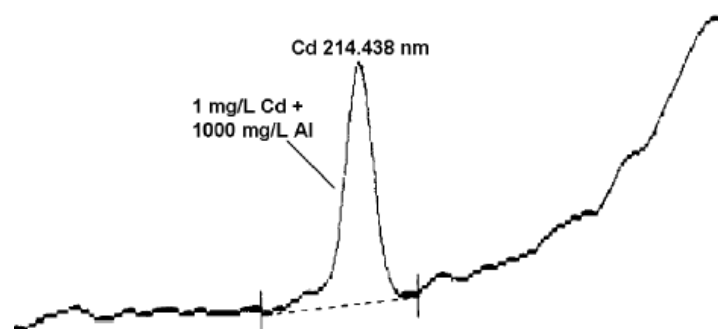


Figura 14. Correção automática realizada pelo software do equipamento para radiação de fundo próxima à linha do elemento de interesse. Interferência do Al na linha do Cd em 214,438 nm.⁴

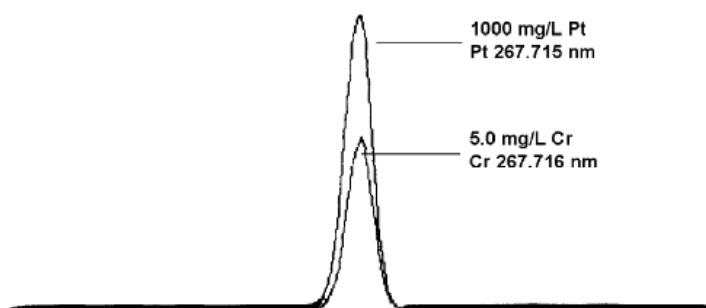


Figura 15. Representação da coincidência total ou parcial de linhas. Interferência da Pt na linha 267,716 nm do Cr. Faz-se necessária a separação química do analito da matriz, escolha de comprimento de onda alternativo ou correção matemática.⁴

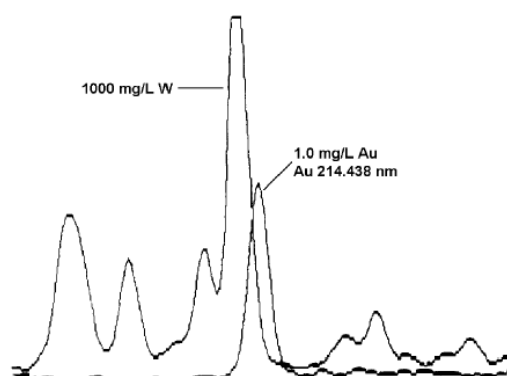


Figura 16. Representação de radiação de fundo complexa sob a linha de interesse. Interferência do espectro do W na linha 214,438 nm do Au. Faz-se necessária neste caso a escolha de comprimento de onda alternativo ou separação química prévia do analito da matriz.⁴

A radiação de fundo torna-se muito importante quando a concentração do analito está próxima do limite de detecção.³ Este problema ocorre principalmente na determinação de elementos traço, tais como As, Hg, Pb, Sb e Se em amostras de origem ambiental e alimentos. SANTOS e OLIVEIRA^{20,21} determinaram As e Se em amostra de café solúvel por ICP OES. Inicialmente a determinação foi realizada através do sistema de nebulização convencional e os espectros de varreduras são apresentados nas Figuras 17 e 18.

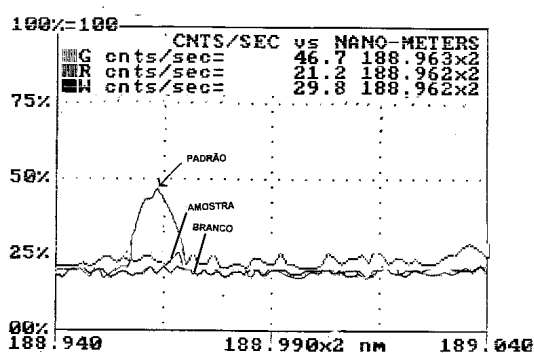


Figura 17. Espectro de varredura do As em matriz de café solúvel.²¹

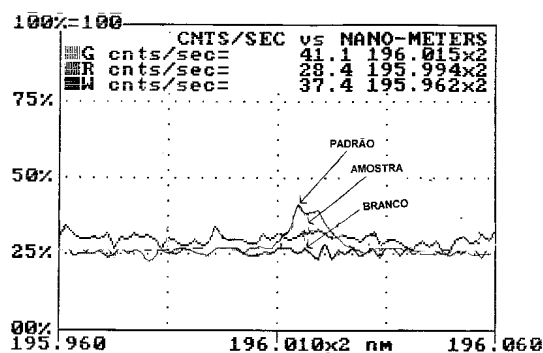


Figura 18. Espectro de varredura do Se em matriz de café solúvel.²¹

Estes espectros de varreduras revelam a presença de radiação de fundo nas determinações dos analitos As e Se, os quais também não apresentam picos de emissão bem definidos, por causa da instabilidade do sinal, de nível muito próximo ao do branco. Portanto, a separação dos analitos da matriz da amostra é a alternativa mais viável para a determinação nos níveis desejados de concentração. Neste contexto, as técnicas de geração de hidretos e vapor frio ou atualmente denominada como *geração química de vapor (CVG)* são adequadas para esta finalidade.²⁰⁻²²

1.3. Técnica da geração química de vapor (CVG) acoplada ao ICP OES

A “geração química de vapor (CVG)” trata da transformação de espécies químicas, tais como As, Hg, Sb, Se e Sn em compostos voláteis, através de uma reação da amostra em meio ácido com um reagente redutor (normalmente o NaBH_4), com o posterior transporte do vapor para uma célula de atomização na espectrometria de absorção atômica (AAS) ou emissão (ICP OES), entre outras técnicas.²² Através deste processo é possível a determinação rotineira dos elementos As, Bi, Ge, Pb, Sb, Sn, Te (formadores de hidretos) e Hg.²²⁻²³

Reações para se gerar hidretos são conhecidas há mais de cem anos, em procedimentos qualitativos e quantitativos, denominados “ensaio de Marsh” e “ensaio de Gutzeit”²⁴, sendo este último ainda empregado na determinação do As.²⁵ A Figura 19 representa o ensaio de Gutzeit.^{24,26} Neste, a amostra que contém o analito é tratada com H_2SO_4 e com solução de KI, sendo o As total reduzido a As(III). A adição de Zn metálico nesta solução leva à formação do hidreto AsH_3 (arsina) volátil. O vapor gerado é conduzido por um tubo de vidro, passando por uma armadilha, contendo $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, que retém possíveis sulfetos presentes na amostra. O As(III) é detectado através da combinação com o HgBr_2 (ou AgNO_3) em um papel previamente impregnado com um destes reagentes, formando um complexo de coloração amarela. Pela comparação com papéis sensibilizados com estes reagentes para quantidades conhecidas de As(III), pode-se estimar a concentração presente na amostra.^{24,26}

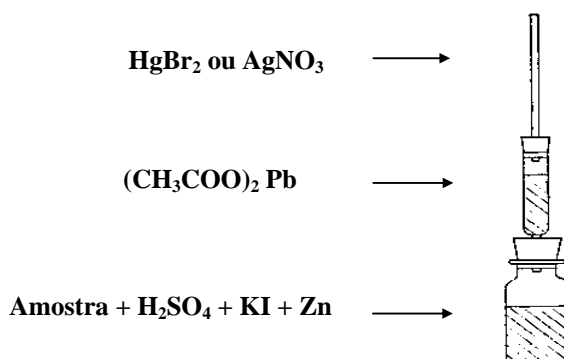


Figura 19. Diagrama esquemático do ensaio de Gutzeit.²⁶

Em 1969, HOLAK²⁷ foi o primeiro a utilizar a técnica de geração de hidretos acoplada a AAS. Gerou AsH₃ pela reação do Zn metálico com a solução da amostra acidificada com HCl, coletando-a em uma armadilha resfriada em nitrogênio líquido. Após o término da reação, o sistema era aquecido e a arsina conduzida, por um fluxo de nitrogênio, diretamente para uma chama de ar/acetileno no AAS (Figura 20), demonstrando que as interferências eram substancialmente reduzidas ou eliminadas.

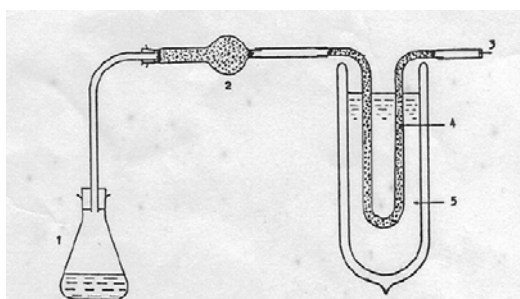
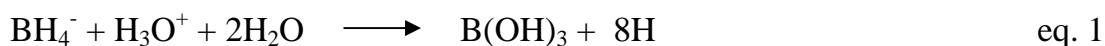


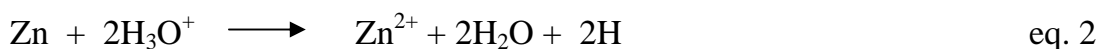
Figura 20. Diagrama esquemático do experimento de HOLAK²⁷: 1. gerador de arsina, 2. CaCl₂, 3. conexão para o AAS, 4. pérolas de vidro, 5. nitrogênio líquido.

Este foi um marco importante para a CVG, usando o acoplamento com a técnica AAS. Entretanto, a adição de metais, como o Zn, Al ou Mg, à soluções ácidas, levava à formação de apenas poucos hidretos voláteis (basicamente AsH₃ e SbH₃), restringindo a aplicação da técnica.^{22,23} Situação esta que foi alterada, já a partir de 1972, com a utilização de soluções redutoras de tetraidroborato de sódio (NaBH₄) estabilizadas em meio alcalino.²⁸ O mecanismo da reação de formação dos hidretos é ainda matéria de debate. Neste contexto, as diferentes hipóteses dos mecanismos são classificadas em dois tipos: a do “hidrogênio nascente” e a do “hidrogênio não nascente”.^{29,30}

O primeiro baseia-se na suposição de que as espécies voláteis são formadas a partir do hidrogênio atômico ou hidrogênio nascente, de acordo com a equação:



de maneira similar, o sistema de redução ácido/metal, por exemplo, Zn/H₃O⁺:

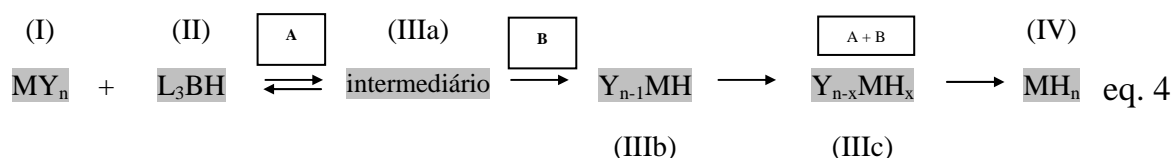


Assim, o hidrogênio nascente é considerado o agente efetivo para a formação do hidreto:



onde M é o analito, m o número de oxidação e n o número de coordenação do hidreto.³⁰

A segunda hipótese, do “hidrogênio não nascente”, baseia-se na teoria na qual os hidretos são formados através de reações com intermediários do BH_4^- . D’ULIVO e colaboradores^{29,30}, a partir de evidências experimentais, apresentaram o mecanismo de formação do hidreto representado por:



A e B são reações primárias, que levam à formação do hidreto. Em A, tem-se a formação de um intermediário de reação, IIIa, o qual é supostamente um complexo do boro (borano) que contém o analito (M). Em B, ocorre a transferência do hidrogênio, da espécie de boro para o analito. Portanto, em I, tem-se um complexo do analito (M) com espécies ligantes presentes na matriz da reação ($Y = H_2O, OH^-, Cl^-, \text{etc}$), o qual reage com II, que são espécies que contém o boro ligado a um hidrogênio, L_3BH , formados a partir da hidrólise do BH_4^- presente em excesso na mesma matriz de reação ($L = H^-, H_2O, OH^-, Cl^-, \text{etc}$). A transferência direta de átomos do hidrogênio ligados ao boro para o analito ocorre através de um rearranjo do intermediário de reação, IIIa, levando à formação de um novo intermediário, IIIb, contendo um átomo de hidrogênio, substituindo o grupo ligante de I. Este novo intermediário de reação passa pelas reações A e B, formando um novo intermediário, IIIc, e assim sucessivamente, até todos os ligantes originalmente ligados ao analito, M, serem substituídos pelo hidrogênio, sendo obtido o hidreto volátil, IV.³⁰

O emprego do NaBH_4 , apresenta uma série de vantagens, entre elas:

- A sua utilização em solução, o que torna a reação mais eficiente e com cinética mais definida;
- É empregado para formar hidretos do As (AsH_3), Bi (BiH_3), Ge (GeH_4), Pb (PbH_4), Sb (SbH_3), Se (SeH_2), Sn (SnH_4), Te (TeH_2) e reduzir espécies de Hg com a formação do Hg atômico. Atualmente, inclui-se ainda Au, Ag, Cu, In, P, Tl e Zn.²²⁻²³

Várias alternativas ao emprego do NaBH_4 , para a CVG, tem sido propostas, entre as quais destacam-se a geração eletroquímica de vapor³¹; reações de alquilações, por exemplo, pelo uso de reagentes de Grignard na alquilação de espécies que se deseja tornar volátil: tributilestanho com brometo de pentilmagnésio²²; e mais recentemente a geração fotoquímica de vapor com irradiação por UV, por exemplo, na geração de espécies voláteis do Se(IV) em ácido fórmico, acético e propiônico com a formação dos compostos SeH_2 , dimetilselênio e dietilselênio respectivamente³², e do Ni pela combinação com o CO, formando o $\text{Ni}(\text{CO})_4$ volátil.³³

Em ICP OES, as primeiras aplicações envolvendo a geração química de vapor foram realizadas por THOMPSON, PAHLAVANPOUR e WALTON³⁴, que relataram a determinação simultânea de As, Bi, Sb, Se e Te. A partir deste trabalho, muitas aplicações têm sido publicadas, envolvendo a técnica.^{23,35}

Basicamente, segundo LAJUNEN³⁶ a CVG acoplada ao ICP OES envolve três passos sucessivos:

1° - A espécie química volátil (hidreto ou Hg atômico) é gerada pela *redução* química da amostra com o NaBH_4 ;

2° - A espécie química volátil é *transportada* por um gás carreador para o plasma;

3° - A espécie química volátil é *decomposta* no plasma.

O *transporte* do hidreto ou Hg atômico no acoplamento da CVG-ICP OES, é realizado mais comumente através de sistema em fluxo contínuo, que produz um fluxo constante dos subprodutos: H₂ e H₂O resultantes da reação do NaBH₄ com a amostra em meio ácido, permitindo a estabilização contínua do fundo, antes e depois da introdução do analito, evitando, portanto a extinção do plasma durante a análise. Neste sistema, bomba multicanal transporta as soluções da amostra e reagentes continuamente em tubos a um ponto de confluência. Após passar por uma bobina de reação, os reagentes são conduzidos a um separador gás-líquido, onde as espécies gasosas são transportadas até o plasma por uma corrente de gás inerte, de argônio ou de nitrogênio.²²

Entretanto, pode-se também gerar as espécies químicas voláteis através do sistema em batelada ou em injeção em fluxo.²² No sistema em batelada, a introdução da amostra (1 a 50 mL) é manual, utilizando um frasco de reação. O agente redutor e/ou reagentes são adicionados através de bomba peristáltica ou injetados manualmente e as espécies químicas voláteis são transportadas diretamente para a fonte de emissão por um gás de arraste. No sistema de injeção em fluxo, emprega-se uma solução carreadora, que é bombeada continuamente e um pequeno volume da amostra é injetada neste carreador (~100 a 1000 µL). O sinal é transiente, cuja área integrada é proporcional à massa do analito, sendo o perfil do sinal dependente da dispersão da amostra no carreador.

A energia normalmente necessária para o processo de dessolvatação e vaporização de um metal em uma amostra líquida está, portanto, disponível no plasma para *decomposição* da espécie química volátil, melhorando a sensibilidade e o limite de detecção.³⁶

As principais vantagens da CVG acoplada ao ICP OES são, portanto ^{22,23}:

- Separação prévia da matriz potencialmente interferente;
- Alta eficiência de introdução da amostra, podendo-se chegar a 100% e com um vapor homogêneo;
- A seletividade aumenta por causa da redução significativa dos interferentes;

- Obtenção de melhores LOD, tornando a técnica de grande interesse na aplicação em análises de elementos traço em amostras de origem ambiental e alimentos;
- Possibilidade de estudos de especiação;
- Determinação simultânea dos analitos.

Por outro lado, algumas limitações incluem ²²:

- A suscetibilidade a interferências por concomitantes existentes na solução que podem impedir ou diminuir a eficiência de formação das espécies voláteis;
- A cinética de geração do vapor pode ser afetada por fatores físicos associados à solução, tais como viscosidade e densidade;
- O pH e as concentrações dos reagentes podem ser críticos para alguns elementos;
- Os estados de oxidação ou a forma do analito são críticos.

1.4. Amostragem em suspensão com geração química de vapor (CVG)

Um problema inerente à determinação de elementos traço tais como As, Hg, Pb, Sb, Se e Sn, é a etapa de *pré-tratamento da amostra*, principalmente quando sólida, pois requer normalmente a dissolução ou a decomposição da mesma, envolvendo longo tempo de preparo, com riscos de perda do analito por volatilização, contaminação e necessidade de grandes quantidades de reagentes, tornando-se uma etapa crítica.³⁷⁻⁴² Contudo, como método alternativo, pode-se empregar a técnica da CVG em amostras na forma de *suspensão*. Assim, diminui-se o risco de contaminação durante a etapa de preparação da amostra, aumentando-se a velocidade do procedimento analítico e a redução do uso de reagentes químicos. Sendo possível também, obter a curva de calibração com o emprego de soluções padrão aquosas do analito.³⁷

A amostragem em suspensão tem sido empregada na determinação de uma variedade de elementos através da espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), conforme revisão de CAL-PRIETO et al.⁴³ e também no ICP OES.⁴⁴⁻⁴⁶ Contudo, algumas variáveis devem ser observadas ao se trabalhar com amostras na forma de suspensões:

- *Tamanho de partícula e homogeneidade da amostra*: Cuidados devem ser tomados na etapa de preparação, que envolve o quarteamento, moagem e peneiramento, de modo a diminuir riscos de contaminação das amostras. O tamanho de partícula do material sólido utilizado para preparar uma suspensão pode influenciar a estabilização e sedimentação, resultando em baixa precisão e exatidão das medidas. Entretanto ainda é um ponto bastante discutido na literatura e depende da composição da amostra.^{37,44,45}

- *Preparação da suspensão*: Nesta etapa é realizado o processo de pesagem da amostra finamente dividida e o pré-tratamento com a definição do meio adequado para a preparação da suspensão. A quantidade de material sólido, que é pesado, depende da concentração do analito e do volume final da diluição da suspensão. Para amostras difíceis de se homogeneizar, consegue-se melhorar a precisão quando se aumenta a massa da amostra.^{37,44} O pré-tratamento pode ser útil na extração

parcial ou total do analito de interesse para a fase líquida, porque freqüentemente melhora a precisão, sendo a eficiência de extração aumentada pelo uso de ácidos e/ou misturas oxidantes.^{37,44}

- *Estabilização e homogeneização da suspensão*: A preparação de suspensões apenas em soluções aquosas é um procedimento inadequado para a maioria das amostras. O material sólido sofre uma rápida sedimentação sendo necessária a estabilização e/ou homogeneização imediatamente antes do início das medidas, de modo a garantir a representatividade da amostra.^{37,44} Diversos tipos de homogeneizadores têm sido empregados, tais como: agitadores magnéticos^{47,48}, misturadores por efeito vortex⁴⁹, borbulhamento de gás⁵⁰ e agitação ultra-sônica.^{45,51} A ação do ultra-som provoca efeitos químicos devido ao fenômeno da cavitação, que é o processo de nucleação, crescimento e colapso de bolhas transientes em líquidos expostos a ondas ultra-sônicas de baixa frequência (<1 MHz). O colapso das bolhas transientes provoca a liberação de grande quantidade de energia, gerando temperaturas locais instantâneas muito elevadas (5200 K) e pressões da ordem de centenas de atmosferas. Além disto, em meio aquoso, a alta energia gerada pelo colapso de bolha de cavitação, contendo moléculas de água, leva à formação de radicais •H e •OH, pela clivagem homolítica de ligações O-H destas moléculas. Estes podem se combinar produzindo água; ou sofrerem arranjos para a formação de H₂ e H₂O₂. Contudo, outros produtos podem ser formados, caso outras espécies estejam presentes no meio sonicado.⁵² Por isto o ultra-som tem sido utilizado com mais freqüência, porque aumenta a eficiência de extração do analito para a fase líquida, quando as suspensões são preparadas em meio ácido e/ou oxidante, e atua na diminuição final do tamanho das partículas sólidas.^{37,51} Entre os agentes estabilizadores (dispersantes ou surfactantes) mais empregados, pode-se destacar: Triton X-100, hexametáfosfato de sódio, decanol, glicerol e emulsão de silicone. Sendo este último agente muitas vezes empregados com os demais e com vantagens adicionais, pois impede a formação de espuma e minimiza a agregação indesejável das partículas.^{37,44}

A amostragem em suspensão com CVG foi inicialmente proposta por HASWELL et al.⁵⁴ em 1988, os quais determinaram As em amostras ambientais através da CVG acoplada à técnica AAS.

As maiores aplicações, relatadas por MATUSIEWICZ⁵⁵ e apresentadas resumidamente na Tabela 1 (p. 26), no período entre 1988 a 2003, tratam quase que exclusivamente da combinação da CVG com amostragem em suspensão acoplada à técnica AAS⁵⁴⁻⁸¹, sendo empregados os sistemas de introdução da amostra em batelada^{54, 56-64, 67-68, 72-78}, fluxo contínuo^{65, 66, 79, 81} e injeção em fluxo.^{69-70, 79} Alguns destes trabalhos também apresentaram o acoplamento da CVG-ET AAS com retenção das espécies voláteis em tubo de grafite recoberto com Au, Ir ou Rh⁷², Au ou Pd⁷³ e Ir.⁷⁴⁻⁷⁹ Apenas MORENO et al.⁸¹ realizaram o acoplamento da CVG com as técnicas de espectrometria de fluorescência atômica (AFS) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para o estudo da especiação do Se.

No período compreendido entre 2004 a 2006, envolvendo ainda a técnica AAS, RIBEIRO et al.⁸² desenvolveram um método para a determinação de Hg em sedimentos, lodos e amostras de carvão com as suspensões (partículas $\leq 50 \mu\text{m}$) sendo preparadas em HNO_3 e em água régia mais HF com agitação ultra-sônica. Em sistema em batelada, os vapores de Hg foram gerados diretamente das suspensões ácidas e conduzidos por um gás de arraste a um tubo T de quartzo instalado em um AAS.

VIEIRA et al.⁸³, realizaram a determinação do Sn em sedimentos e carvão, com retenção das espécies químicas voláteis em tubo de grafite tratado com Th ou W acoplado ao AAS. As amostras de suspensões dos sedimentos (partículas $\leq 50 \mu\text{m}$) foram preparadas em $\text{HCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$, entretanto, para as amostras de carvão, resultados satisfatórios para o Sn foram obtidos após a adição de 1% v/v de HF seguido da saturação com H_3BO_3 , a agitação ultra-sônica foi utilizada.

CAL-PRIETO et al.⁸⁴ determinaram Sb em amostras ambientais (solos, sedimentos, carvão e cinzas de carvão) também por CVG-ET AAS. As suspensões foram preparadas em $\text{HCl } 9 \text{ mol L}^{-1}$, sendo o processo analítico otimizado através da análise fatorial.

Empregando a CVG acoplada a técnica AFS em sistema de fluxo contínuo, CAVA-MONTESINOS et al.⁸⁵ determinaram As, Bi, Sb, Se e Te em leite em pó. As suspensões foram preparadas em água régia e submetidas à agitação ultrassônica. Foram adicionados um polímero de silicone (Antifoam A) e cloridrato de hidroxilamina, para evitar a formação de espuma e eliminar o excesso de HNO₃, que causa diminuição no sinal em AFS. As suspensões foram divididas em duas porções: (a) Para a determinação do Bi, Se e Te, foram tratadas com HCl e KBr com aquecimento a 60°C por 30 min, para promover a redução adequada do Se e Te para Se(IV) e Te(IV) respectivamente; (b) Para a determinação de As e Sb, foram adicionados HCl, KI e ácido ascórbico, com o objetivo de garantir a conversão para As(III) e Sb(III). As recuperações dos analitos se apresentaram entre 94,5 a 103,1%. Em um trabalho similar, RÓDENAS-TORRALBA et al.⁸⁶, realizaram um estudo para a diferenciação das espécies Te(IV) e Te(VI).

A CVG acoplada ao ICP-MS é descrita também por RIBEIRO et al.⁸⁷, que propuseram um método para a determinação simultânea de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de origem ambiental com amostragem em suspensão utilizando um sistema de injeção em fluxo. As suspensões, com partículas $\leq 50 \mu\text{m}$, foram preparadas nos meios contendo HCl 16,6% v/v e em água régia 5% v/v + HCl 50% v/v com posterior aquecimento a 90°C por 15 min para redução do Se(VI) a Se(IV) sendo utilizada a agitação ultrassônica.

VIEIRA et al.⁸⁸ realizaram o acoplamento da CVG-ETV-ICP-MS (geração química de vapor com retenção no vaporizador eletrotérmico acoplado a ICP-MS) com retenção das espécies químicas voláteis em tubo de grafite recoberto com Ir, para a determinação de As, Hg, Se e Sn em sedimentos. As suspensões, com tamanhos de partículas $\leq 50 \mu\text{m}$, foram preparadas empregando-se a agitação ultrassônica em meio oxidante constituído de água régia e HF. Nesta mesma linha de pesquisa, VIEIRA et al., determinaram As, Ge, Hg, Pb, Sb, Se e Sn em amostras de carvão empregando calibração externa com padrões aquosos e diluição isotópica⁸⁹ e Cd, Hg, Pb e Se em amostras de sedimentos com calibração através da diluição isotópica, comparando-se dois sistemas: FI-CVG-ICP-MS (geração química de vapor em sistema de injeção em fluxo acoplado a ICP-MS) e CVG-ETV-ICP-MS.⁹⁰

Finalmente, MATUSIEWICZ e SLACHCIŃSKI⁹¹ apresentaram um método para a determinação simultânea de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras ambientais e biológicas com amostragem em suspensão através do sistema em batelada acoplado ao MIP OES (espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por microondas), no qual as suspensões, com tamanhos de partículas originais ($\leq 80 \mu\text{m}$) foram preparadas em HCl 9% v/v + tiouréia [$\text{SC}(\text{NH}_2)_2$] 1% m/v + decanol como agente antiespumante, usando agitação ultra-sônica.

Portanto, a CVG diretamente de amostras na forma de suspensões tem se mostrado como uma técnica bastante atrativa.⁵⁵ O estudo da CVG-ICP OES em sistema de fluxo contínuo com amostragem em suspensão ainda não havia sido relatado na literatura e constituiu-se no principal objetivo da presente proposta de trabalho.

Tabela 1. Aplicações da amostragem em suspensão relatados por MATUSIEWICZ⁵⁵ no período de 1988 a 2003.⁵⁴⁻⁸¹

Analito	Matriz	Suspensão	Ref.
As	solo, lodo, cinzas de carvão e cinzas de lixo	4 mol L ⁻¹ HCl (partículas < 90µm) agitação magnética	54
Pb	alimentos e amostras biológicas	Triton X-100 + silicone (partículas < 25µm) agitação mecânica	56-58
Sb	sedimentos marinhos e solo	Triton X-100 + silicone (partículas < 4µm) agitação ultra-sônica	59
Hg	pigmentos de óxido ferro e óxido titânio	Hexametáfosfato de sódio (partículas < 45µm) agitação magnética	60
Pb	Pigmento de óxido ferro	Hexametáfosfato de sódio (partículas < 38µm) agitação magnética	61
As	cinzas de resíduos ambientais	H ₂ O (partículas < 8,5µm) agitação magnética	62
Sb	sedimentos e solos	Triton X-100 + silicone agitação magnética	63
As, Hg	cinzas carvão e terra diatomácea	Hg: 3 mol ⁻¹ HCl As: 5 mol L ⁻¹ HCl + 1% m/v KI agitação ultra-sônica	64
Pb	alimentos e bebidas	Triton X-100 + silicone (partículas < 25µm) agitação mecânica	65
Sb	tecido de fígado	liofilização 1 mol L ⁻¹ ácido acético agitação ultra-sônica	66
As	tabaco de cigarros	Triton X-100 (partículas < 60µm) agitação ultra-sônica	67
As	Sedimentos	Triton X-100 (partículas < 25µm) agitação ultra-sônica	68
Hg	amostras biológicas e ambientais	Triton X-100 (partículas < 100µm) agitação magnética e agitação ultra-sônica	69
As	Solos	Triton X-100 (partículas < 212µm) agitação magnética	70
Cd	amostras biológicas e ambientais	6 mol L ⁻¹ HCl agitação ultra-sônica	71
Hg	carvão mineral	1 mol L ⁻¹ HNO ₃ (partículas < 80µm, < 50µm, < 30µm) agitação manual	72
As, Hg, Sb Se e Sn	cerveja e mosto	HNO ₃ + decanol agitação ultra-sônica	73
As, Bi e Se	sedimento marinho, solo e carvão	em HNO ₃ + HCl ; em glicerol (partículas < 50µm) agitação ultra-sônica	74
As, Bi, Ge Hg e Se	cinzas de carvão	glicerol (partículas ≤10 µm) agitação magnética	75
As	sedimentos, carvão e cinzas	água régia (partículas ≤77 µm, ≤50 µm, ≤36 µm) agitação ultra-sônica	76
Sn	sedimento mar., solo, cinzas de carvão e carvão	em glicerol , em HCl e HNO ₃ (partículas ≤20 µm) agitação ultra-sônica	77
Hg	amostras ambientais e biológicas	glicerol (partículas ≤10 µm) agitação magnética	78
As	amostras ambientais e biológicas	Triton X-100 (partículas ≤20 µm) agitação ultra-sônica	79
Hg	Peixe	0,36 - 6 mol L ⁻¹ HCl + Triton X-100 (partículas ≤100 µm) agitação magnética	80
Se	sedimentos e alho	HCl 6 mol L ⁻¹ agitação ultra-sônica	81

2. PROPOSTA DE TRABALHO

Objetivo geral

- ◆ O objetivo principal da presente proposta de trabalho é desenvolver metodologia analítica adequada para a determinação dos elementos traço formadores de hidretos (As, Pb, Sb, Se e Sn) e Hg em amostras ambientais e biológicas, na forma de suspensão, utilizando a CVG-ICP OES. Os elementos químicos escolhidos são de grande interesse ambiental e a exatidão dos métodos analíticos desenvolvidos será avaliada através da utilização de amostras ambientais e biológicas de referência certificadas e aplicados na análise de amostras reais. A precisão dos métodos também será considerada.

Objetivos específicos

- ◆ Otimizar as condições instrumentais através da análise fatorial e avaliar a possibilidade de determinação simultânea dos elementos formadores de hidretos e Hg.
- ◆ Definir e avaliar procedimentos adequados de preparação das suspensões das amostras ambientais e biológicas.
- ◆ Avaliar a precisão e exatidão dos métodos desenvolvidos.
- ◆ Aplicar os métodos desenvolvidos a amostras reais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação

O espectrômetro utilizado neste trabalho foi o ICP OES modelo Vista - Pró simultâneo com observação axial Varian (Mulgrave, Austrália). O sistema de fluxo contínuo de geração química de vapor VGA-76P também da Varian foi acoplado ao ICP OES. Neste sistema foram utilizados tubos de PVC de 0,32 mm de diâmetro da Kendall (No. 1160549070, Tijuana, Mexico) e 0,45 mm de diâmetro da Elkay (No. LK 116-0532-100, Boston Turnpike, EUA), empregados para as soluções de NaBH_4 e HCl ou ácido tartárico. Para as amostras em suspensões, os tubos de PVC utilizados foram de 2,90 mm de diâmetro da Kendall (No. 1160549160) e 0,56 mm de diâmetro da Elkay (No. LK 116-0533). As condições instrumentais são apresentadas na Tabela 2 e Figura 21. Gás Ar de 99,996 % de pureza (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado. As amostras para a preparação das suspensões foram pesadas utilizando uma micro-balança M2P (Sartorius, Gottingen, Alemanha) e as suspensões foram preparadas empregando-se os banhos de ultrassom modelo USC-2850A, com frequência de 25 kHz da Thornton (São Paulo, Brasil) e o modelo 1440 DA, com frequência de 40 kHz da Odontobrás (São Paulo, Brasil).

Um liofilizador modelo Modulyo da Edwards (Londres, Inglaterra) e um sistema de microondas focalizadas modelo Star System 2 da CEM Corporation (Matthews, NC, EUA) foram empregados na preparação de amostras reais de ostras.

Um sistema de produção de O_3 foi construído no laboratório (Figura 22), constituído de um tubo Pyrex de 45 cm x 3 cm de diâmetro contendo em seu interior uma lâmpada de Hg (254 nm, 43,5 cm x 2,2 cm, 15 W, modelo G15T8 da General Electric, EUA) e protegido com papel de alumínio. Em operação, O_2 de 99,99% de pureza (White Martins, São Paulo, Brasil) foi injetado através do sistema com uma vazão controlada e irradiado pela lâmpada de 15 W. O O_3 produzido foi borbulhado diretamente na suspensão através de um tubo PTFE. A quantidade de O_3 produzida foi controlada através do tempo de ozonização, sendo sua concentração determinada, com base na reação do O_3 com íons Γ .^{79,92}

Tabela 2. Parâmetros instrumentais do ICP OES e sistema de geração química de vapor.

ICP OES		
Gerador de radiofrequência	40 MHz	
Potência da radiofrequência	1,2 kW	
Vazão do gás plasma	15,0 L min ⁻¹	
Vazão do gás auxiliar	1,5 L min ⁻¹	
Modo de leitura	Altura de pico	
Tempo de leitura das replicatas	3 s	
Tempo de estabilização	35 s	
Replicatas	4	
Tocha	padrão de quartzo para observação axial	
Linhas analíticas	As: 193,696 nm Hg: 253,652 nm Pb: 220,253 nm Sb: 217,582 nm Se: 196,026 nm Sn: 189,927 nm Ge: 219,871 nm (padrão interno) Bi: 223,061 nm (padrão interno)	
Sistema de geração química de vapor	As, Hg, Sb, Se, Sn	Pb, Sn
Vazão da amostra	8 mL min ⁻¹	3 mL min ⁻¹
Vazão do NaBH ₄	1 mL min ⁻¹	2,5 mL min ⁻¹
Vazão do HCl	1 mL min ⁻¹	-----
Vazão do ácido tartárico	-----	2,5 mL min ⁻¹
Vazão do gás de arraste	120 mL min ⁻¹	120 mL min ⁻¹
Concentrações do NaBH ₄	1,0 e 1,5 % m/v (em NaOH 0,4 % m/v)	2,5 % m/v (em NaOH 0,4 % m/v)
Concentração do HCl	6 mol L ⁻¹	-----
Concentração do ácido tartárico	-----	0,5% m/v

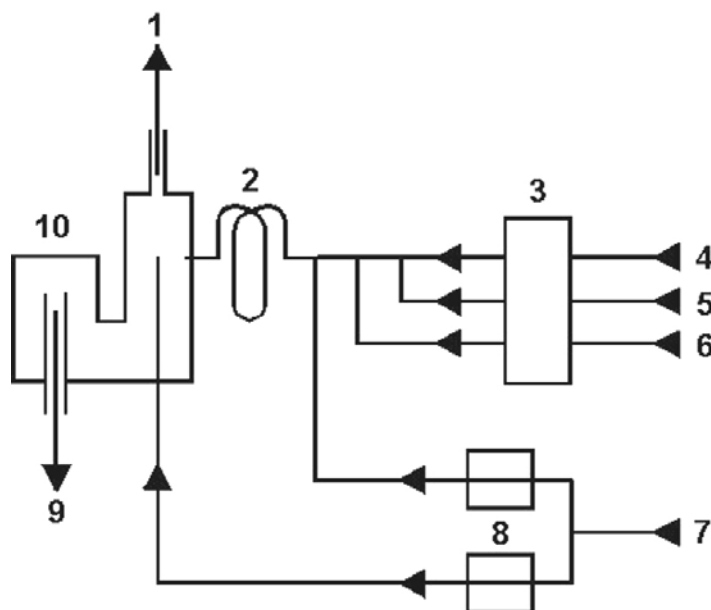


Figura 21. Diagrama esquemático do sistema CVG em fluxo contínuo (Varian modelo VGA-76P): 1. Saída das espécies químicas voláteis para o ICP OES; 2. Bobina de reação (tubo capilar de polietileno com 100 cm de comprimento e 1,8 mm de diâmetro interno); 3. Bomba peristáltica (50 rpm); 4. Entrada da amostra (como suspensão) e soluções padrão de calibração; 5. Entrada dos reagentes HCl ou ácido tartárico; 6. Entrada do NaBH_4 ; 7. Entrada do gás de arraste Ar; 8. Controlador de fluxo; 9. Dreno (Nalgene); 10. Separador de fases.



Figura 22. Sistema de produção de ozônio construído no laboratório conforme MATUSIEWICZ e MROCZKOWSKA⁷⁹ e CAPELO-MARTÍNEZ et al.⁹².

3.2. Materiais e reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico de pureza. Água desionizada com resistividade de 18 M Ω cm foi produzida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Os seguintes reagentes foram utilizados: HNO₃ 65% v/v Suprapur® Merck (no. 1.00441.1000, Darmstadt, Alemanha), HCl 30% v/v Suprapur® Merck (no. 1.00318.0250), HF 40% v/v Merck (no. 1.00338.1000), solução aquosa de 25% m/v de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) da Sigma (no. T 7505, Steinheim, Alemanha), água régia (preparado pela mistura de HCl + HNO₃ 3:1), solução aquosa 5% m/v de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) Merck (no. 1.05091.250) dissolvidos em 2,5% m/v de NaOH, peróxido de hidrogênio 30% v/v (H₂O₂) Merck (no. 1.07210.1000), ácido tartárico (H₂C₄H₄O₆) da Mallinckrodt (no. 2312, Phillipsburg, NJ, EUA), persulfato de amônio (NH₄)₂S₂O₈ da Mallinckrodt (no. 0762-01), HClO₄ 70-72% v/v Merck (no. 1.00519.1000), antiespumante Antifoaming A da Sigma (no. 5758), solução 0,1% v/v de Triton X-100 da Sigma (no. X-100). Diferentes concentrações de NaBH₄ Merck (no. K23557471 717): 0,6%, 0,8%, 1,0%, 1,25%, 1,5%, 2,0 % e 2,5% m/v foram preparadas diariamente em 0,4% m/v de NaOH Merck (no. B142898).

Para a filtração das suspensões foi utilizada membrana de acetato de celulose de 0,45 μ m da Millipore (no. HAWP04700, Billerica, MA, EUA) com sistema de filtração a vácuo Millipore Sterifil 47 mm (no. XX11.047.00).

Soluções padrão contendo 1000 μ g mL⁻¹: Hg(II) (Merck, no. 1.70226.0500), Sn(IV) (Merck, no. 9929), Sb(III) (Merck, no. 1.70204.0500), Se(IV) (Merck, no. 1.19796.0500), Bi(III) (Merck, no. 1.19804.0500) e Pb(II) (Merck, no. 1.19776.0500) foram utilizadas. Solução padrão de As(III) de 1000 μ g mL⁻¹ foi preparada através da dissolução de As₂O₃ da Alfa Aesar (no. 33289, Ward Hill, MA, EUA) em 6 mol L⁻¹ de HCl e Ge(IV), solução padrão de 1000 μ g mL⁻¹, foi preparada pela dissolução de (NH₄)₂GeF₆ (no. PLK 10-Ge, Spex, Metuchen, NJ, EUA,) em quantidade apropriada de HNO₃ 1% v/v.

As seguintes amostras de referência certificadas foram utilizadas: DORM-1e DOLT-2 (músculo e fígado de cação), TORT-2 (hepatopâncreas de lagosta), HISS-

1 e PACS-2 (sedimentos marinhos) da *National Research Council of Canada* (NRCC, Ottawa, Ontario, Canadá); BCR 186 (rim liofilizado de porco), CRM 146 R (lodo de esgoto de origem industrial) e CRM 144 R (lodo de esgoto de origem doméstico) da *Community Bureau of Reference* (Bruxelas, Bélgica); SRM 1566a (tecido de ostra liofilizado) e SRM 2702 (sedimento marinho) da *National Institute of Standards & Technology* (NIST, Gaithersburg, MD, EUA), RS-3 (sedimento de rio) analisado em um “round robin test”⁹³ e 4 amostras de tecido de peixe (340, 341, 342 e 343) de um programa de proficiência internacional da *Canadian Food Inspection Agency* (University Crescent, Manitoba, Canadá).

Amostras reais de sedimentos de rio foram coletadas em pontos diferentes na bacia hidrográfica do rio Iguaçu, em Curitiba-PR, e amostras de ostras coletadas em Sambaqui e Santo Antônio de Lisboa em Florianópolis-SC.

3.3. Procedimentos de preparação das suspensões

Vários procedimentos diferentes de preparação das suspensões foram avaliados:

3.3.1. Procedimentos de preparo de suspensões para a determinação de Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos

As amostras, todas certificadas, foram moídas em gral de ágata e passadas em um malha de poliéster seletiva a partículas com diâmetro $\leq 50 \mu\text{m}$. As amostras biológicas de tecido de peixe (340, 341, 342 e 343) foram previamente secas a 40°C por 24 h em uma estufa a vácuo. Cinco diferentes procedimentos foram avaliados:

Procedimento 1: Quantidade entre 13-30 mg de cada amostra foi pesada e transferida para tubo de polipropileno de 15 mL (Sarstedt, Darmstadt, Alemanha), no qual foram adicionados 1500 μL de água régia e 300 μL de HF. A mistura foi submersa em banho de ultra-som por 30 min. Após este período, as suspensões foram mantidas em repouso por 24 h com agitação manual ocasional. Finalmente, as suspensões foram submetidas novamente ao banho de ultra-som por mais 30 min e o volume final de 15 mL foi completado com água desionizada. Desta maneira, a concentração final de água régia foi 10% v/v e do HF 2% v/v na suspensão final. Antes de ser realizada a determinação do Hg, duas gotas do antiespumante

Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s. Este procedimento já foi previamente utilizado em amostras ambientais por VIEIRA et al.⁷⁶ e RIBEIRO et al.⁸²

Procedimento 2: Como o *Procedimento 1*, mas eliminando-se o período de repouso de 24 h bem como o segundo processo da ação do ultra-som. Desta maneira, a concentração final de água régia foi 10% v/v e do HF 2% v/v na suspensão final.

Procedimento 3: Como o *Procedimento 2*, mas com a exceção do HF que não foi utilizado. Desta maneira, a concentração final de água régia foi 10% v/v na suspensão final.

Procedimento 4: Como o *Procedimento 3*, exceto que a água régia foi substituída pelo mesmo volume de HNO₃ concentrado. Portanto, a concentração final de HNO₃ foi de 10% v/v na suspensão final.

Procedimento 5: Como o *Procedimento 4*, exceto que o HNO₃ foi substituído por 1500 µL de água desionizada e 150 µL de uma solução 25% m/v de TMAH. Assim, a concentração de TMAH foi de 0,25% m/v na suspensão final. Este procedimento já foi previamente utilizado por RIBEIRO et al.⁹⁴ em amostras de café e leite.

As curvas de calibração, incluindo o branco, foram preparadas com a concentração do analito Hg na faixa de 0,5 a 10 µg L⁻¹ no mesmo meio das suspensões.

3.3.2. Procedimento de preparo de suspensões para a determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos

Para a determinação simultânea de As, Hg, Sb, Se e Sn em sedimentos, as amostras certificadas foram utilizadas com seus tamanhos de partículas originais, ou seja, todas inicialmente ≤ 120 µm. Já as amostras reais de sedimentos, foram previamente secas à temperatura ambiente (24h), moídas em um gral de ágata e passadas em uma peneira seletiva a partículas com diâmetro ≤ 149 µm. O **Procedimento 3** descrito no item anterior foi empregado com a adição de uma solução de Ge(IV) como padrão interno com concentração final de 50 µg L⁻¹. Antes

de ser realizado a determinação dos analitos, duas gotas do antiespumante Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s. A curva de calibração, incluindo o branco, foi preparada na mesma concentração dos reagentes, ou seja 10% v/v de água régia e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ge(IV) como padrão interno, sendo as faixas de concentração de $0,5\text{-}10 \mu\text{g L}^{-1}$ para Hg (II), Sb (III), Se (IV), e $10\text{-}100 \mu\text{g L}^{-1}$ para As (III) and Sn (IV).

3.3.3. Procedimentos de preparo de suspensões para a determinação de Hg e Se em amostras biológicas

Também neste caso as amostras certificadas foram utilizadas com os tamanhos de partículas originais, ou seja, $\leq 120 \mu\text{m}$. No caso das amostras reais de ostras, os tecidos foram previamente separados da concha utilizando uma espátula de aço inox, sendo secos a 35°C em estufa a vácuo por 48 horas e liofilizados por 8 horas. A seguir as amostras foram moídas em um gral de ágata e passadas em uma peneira seletiva a partículas com diâmetro $\leq 300 \mu\text{m}$. Sete procedimentos diferentes de preparação das suspensões foram avaliados:

Procedimento 1: Exatamente igual ao *procedimento 3* descrito no item 3.3.1 ou seja a concentração final de água régia foi 10% v/v na suspensão final.

Procedimento 2: Quantidade entre 15-30 mg de cada amostra foi pesada e transferida para tubo de polipropileno de 15 mL, no qual foram adicionados 7,5 mL de HCl concentrado. A mistura foi submersa em banho de ultra-som por 30 min e o volume final de 15 mL foi completado com água desionizada. Desta maneira, a concentração final de HCl foi 6 mol L^{-1} na suspensão final. Antes de ser realizado a determinação dos analitos, a suspensão foi aquecida por 15 min a 90°C ^{95,96} e após resfriamento duas gotas do antiespumante Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s.

Procedimento 3: Exatamente igual ao *procedimento 5* descrito no item 3.3.1 ou seja a concentração de TMAH foi de 0,25% m/v na suspensão final.

Procedimento 4: Quantidade entre 15-30 mg de cada amostra foi pesada e transferida para tubo de polipropileno de 15 mL, no qual foi adicionado 0,5 mL de H_2O_2 30% v/v. A mistura foi submersa em banho de ultra-som por 60 min. A seguir

foram adicionados 7,5 mL de HCl concentrado e o volume final de 15 mL foi completado com água desionizada. Desta maneira, a concentração final de HCl foi 6 mol L⁻¹ na suspensão final. Antes de ser realizado a determinação dos analitos, a suspensão foi aquecida por 15 min a 90°C^{95,96} e, após resfriamento, duas gotas do antiespumante Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s.

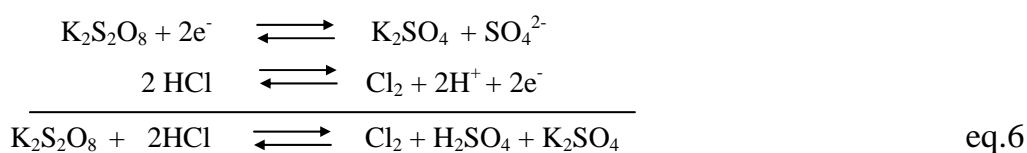
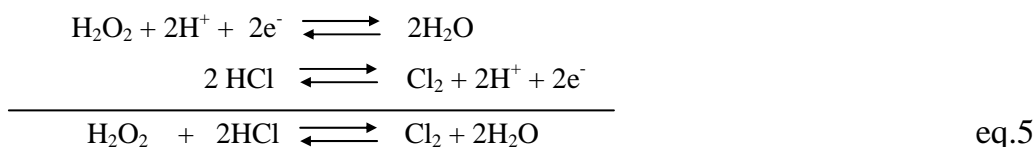
Procedimento 5: Como o *procedimento 4* anteriormente descrito, exceto que o H₂O₂ foi substituído por 1500 µL de K₂S₂O₈ 5% m/v em NaOH 2,5% m/v. Após o processo com o ultra-som, 8,3 mL de HCl concentrado foram adicionados e o volume final de 15 mL foi completado com água desionizada. Desta maneira, a concentração final de HCl foi 6 mol L⁻¹ na suspensão final. Antes de ser realizado a determinação dos analitos, a suspensão foi aquecida por 15 min a 90°C e após resfriamento duas gotas do antiespumante Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s.^{95,96}

Procedimento 6: Quantidade entre 15-30 mg de cada amostra foi pesada e transferida para tubo de polipropileno de 15 mL, no qual foram adicionados 1500 µL de água desionizada e 150 µL de TMAH 25% m/v. A mistura foi submersa em banho de ultra-som por 30 min. A suspensão foi então submetida ao processo de ozonização. Através de uma vazão controlada de 600 mL min⁻¹ de O₂ (Figura 22, p. 30), o O₃ produzido foi passado através das suspensões por um tempo de 15 min. Esta vazão produziu em média cerca de 0,16 mg min⁻¹ de O₃. A seguir foram adicionados 7,5 mL de HCl concentrado e o volume final de 15 mL foi completado com água desionizada. Desta maneira, a concentração final de HCl foi de 6 mol L⁻¹ na suspensão final. Antes de ser realizado a determinação dos analitos, a suspensão foi aquecida por 15 min a 90°C e após resfriamento duas gotas do antiespumante Antifoam A foram adicionadas e a mistura agitada manualmente por 30 s.^{95,96}

Procedimento 7: Como o *procedimento 6*, exceto que o TMAH foi substituído por 1500 µL de Triton X-100 0,1% v/v.⁷⁹

As curvas de calibração, incluindo o branco, foram preparadas com a concentração dos analitos na faixa de 0,5 a 10 µg L⁻¹ no mesmo meio das suspensões, sendo: água régia 10% v/v (utilizada para o *procedimento 1*), HCl 6

mol L⁻¹ (utilizada para os *procedimentos 2, 4 e 5*), TMAH 0,25% m/v (*procedimento 3*), TMAH 0,25% m/v em HCl 6 mol L⁻¹ (*procedimento 6*) e Triton X-100 0,1% v/v em HCl 6 mol L⁻¹ (*procedimento 7*). Os reagentes H₂O₂ e K₂S₂O₈ não foram adicionados nas soluções de calibração pois o excesso destes reagem com HCl, de acordo com as equações a seguir^{97,98}:



3.3.4. Procedimento de preparo de suspensões para a determinação de Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos

As amostras certificadas foram utilizadas com os tamanhos de partículas originais, ou seja, $\leq 120 \mu\text{m}$. As amostras reais de sedimentos foram previamente secas à temperatura ambiente (24h), moídas em um gral de ágata e passadas em uma peneira seletiva a partículas com diâmetro $\leq 149 \mu\text{m}$. O seguinte procedimento foi utilizado: Quantidade entre 20-50 mg de cada amostra foi pesada e transferida para tubo de polipropileno de 50 mL (Sarstedt, Darmstadt, Alemanha), no qual foram adicionados 1000 μL de água régia. A mistura foi submersa em banho de ultra-som por 60 min e o volume final de 50 mL foi completado com solução de (NH₄)₂S₂O₈ até concentração final de 10% m/v. Desta maneira, a concentração final de água régia foi de 2% v/v e do (NH₄)₂S₂O₈ foi de 10% m/v na suspensão. Exatamente antes de ser realizada a determinação do Pb e Sn, uma gota do antiespumante Antifoam A foi adicionada e a mistura agitada manualmente por 30 s.

As curvas de calibração, incluindo o branco, foram preparadas com a concentração dos analitos na faixa de 5 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Sn(IV) e 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Pb(II) em água régia 2% v/v e (NH₄)₂S₂O₈ 10% m/v.

3.4. Procedimentos de digestão total para amostras de sedimentos e ostras

3.4.1. Amostras de sedimentos: Determinação de Pb e Sn

As amostras reais de sedimentos, previamente secas à temperatura ambiente, moídas em um gral de ágata e passadas em uma peneira seletiva a partículas com diâmetro $\leq 149 \mu\text{m}$, foram pesadas (aproximadamente 0,5g) e transferidas para copos de teflon de 50 mL. Para cada amostra, foram adicionados pequena quantidade de água desionizada e 5 mL de HNO_3 , sendo a mistura evaporada até um pequeno volume em chapa de aquecimento. Então, 2,5 mL de HNO_3 , 2,5 mL de HClO_4 e 5 mL de HF foram adicionados e a mistura foi novamente aquecida até fumos de percloratos serem liberados. Após 30 min de aquecimento, 5 mL de HCl 50% v/v foram adicionados e a mistura foi novamente aquecida até ebulição, por aproximadamente 10 min. Após resfriamento, a solução límpida obtida foi diluída para 50 mL em balão volumétrico com água desionizada. As soluções das amostras obtidas foram utilizadas para a determinação simultânea de Pb e Sn através do sistema convencional de introdução de amostra (nebulização pneumática) no ICP OES.⁹⁹

3.4.2. Amostras de ostras: determinação de Hg e Se

Os tecidos de cada amostra de ostra foram previamente separados da concha utilizando uma espátula de aço inox, sendo previamente secos a 35°C em estufa a vácuo por 48 horas e liofilizados por 8 horas. A seguir foram moídos em um gral de ágata e passados em uma peneira seletiva a partículas com diâmetro $\leq 300 \mu\text{m}$. As amostras foram pesadas (aproximadamente 0,2 g) e transferidas para tubos de vidro de 300 mL (do sistema de microondas). Para cada amostra, foram adicionados 5 mL de HNO_3 e 4 mL de H_2O_2 30% v/v. Após um repouso de 30 min, a amostra foi digerida em um sistema de microondas focalizadas, sob refluxo, por 20 min a 106°C . A solução límpida obtida foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água desionizada. A determinação do Hg foi realizada por CVG-ICP OES. Para a determinação do Se, também por CVG-ICP OES, uma alíquota de 20 mL de cada amostra foi evaporada (95°C) até quase a secura e o volume foi retomado com HCl 6 mol L^{-1} seguido de aquecimento, à 90°C , por 15 min em tubos de vidro com tampas.¹⁰⁰

3.5. Tratamento estatístico dos dados

O programa estatístico Statgraphics Plus 5.0 (Statgraphics Graphics Corp., ST.SC., EUA) foi utilizado para o tratamento dos dados de otimização do processo analítico através da análise fatorial completa.

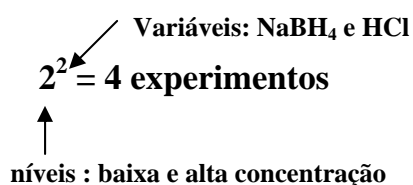
3.5.1 Análise Fatorial

A análise fatorial é uma técnica estatística a qual permite investigar as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e seus efeitos de interação na resposta. O gráfico de Pareto pode ser empregado para representar as relações entre as variáveis.¹⁰¹⁻¹⁰³

Se a combinação de k fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial consistirá de 2^k experimentos. Normalmente, os níveis dos fatores quantitativos são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto, porém o que importa é a relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido, não sendo um critério definido a nomeação dos sinais.^{102,103}

No presente trabalho, a *resposta* será a intensidade de emissão, em contagens por segundo (cps), de cada analito sob investigação. Esta intensidade pode ser maior ou menor, em função dos *fatores* (ou variáveis) que podem ser: concentração dos reagentes envolvidos na geração dos compostos voláteis dos analitos (ex.: HCl, NaBH₄, (NH₄)₂S₂O₈, H₂C₄H₄O₆) e/ou vazão do gás de arraste e/ou potência da radiofrequência.

Exemplo: estabelecer as concentrações ideais de NaBH₄ e HCl com o objetivo de obter máxima sensibilidade na determinação de As(III) por CVG-ICP OES. Portanto, foi realizada a otimização, através da análise fatorial em dois níveis com duas variáveis: (A) NaBH₄ (1,0% m/v e 1,5% m/v) e (B) HCl (4,0 mol L⁻¹ e 8,0 mol L⁻¹), sendo obtida a resposta (intensidade de emissão, cps) de uma solução padrão de 50 µg L⁻¹ de As(III).



É construída então, uma matriz de planejamento (Tabela 3) para identificação das variáveis significativas, e o experimento normalmente é realizado em duplicata.^{102,103}

Tabela 3. Exemplo da matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas.

Experimento	A	B	Intensidade (cps)*
1	-	-	1284
2	+	-	2457
3	-	+	1398
4	+	+	2834

Fatores: A: concentração de NaBH₄ (% m/v); B: concentração de HCl (mol L⁻¹). Valores: mínimo (-); máximo (+). A: 1,0% m/v (-) e 1,5% m/v (+); B: 4,0 mol L⁻¹ (-) e 8,0 mol L⁻¹ (+).

* intensidade média (n=2)

A próxima etapa é obter os valores dos efeitos principais de cada variável, bem como, o efeito resultante da interação entre elas. Assim, o efeito principal da concentração do NaBH₄, é por definição a média dos efeitos da concentração do NaBH₄ nos dois níveis de concentração do HCl.¹⁰² Usando E_{NaBH₄} para representar este efeito, e sendo \bar{y}_i a resposta média observada no *i*-ésimo ensaio, podemos escrever:

$$E_{\text{NaBH}_4} = \left(\frac{\bar{y}_2 + \bar{y}_4}{2} \right) - \left(\frac{\bar{y}_1 + \bar{y}_3}{2} \right) \quad (\text{I})$$

Como \bar{y}_2 e \bar{y}_4 pertencem ao nível (+) e \bar{y}_1 e \bar{y}_3 pertencem ao nível (-) do fator concentração do NaBH₄, podemos afirmar que o efeito principal E_{NaBH₄} é a diferença entre a resposta média no nível superior e a resposta média no nível inferior deste fator, e portanto, podemos reescrever (I):

$$E_{\text{NaBH}_4} = \bar{y}_+ - \bar{y}_- \quad (\text{II})$$

Substituindo, temos:

$$E_{\text{NaBH}_4} = \left(\frac{2457 + 2834}{2} \right) - \left(\frac{1284 + 1398}{2} \right)$$

$$E_{\text{NaBH}_4} = 1304,5 \text{ cps}$$

Este valor indica que a intensidade do sinal sobe para 1304,5 cps quando a concentração do NaBH_4 passa de seu nível inferior de 1% m/v para o seu nível superior de 1,5% m/v.¹⁰²

Da mesma maneira, o efeito principal da concentração do HCl, é por definição a média dos efeitos da concentração do HCl nos dois níveis de concentração do NaBH_4 , portanto temos:

$$E_{\text{HCl}} = \left(\frac{2834+1398}{2} \right) - \left(\frac{2457+1284}{2} \right)$$

$$E_{\text{HCl}} = 245,5 \text{ cps}$$

Neste caso, este valor indica que a intensidade do sinal sobe para 245,5 cps quando a concentração do HCl passa de seu nível inferior, 4 mol L⁻¹, para seu nível superior, ou seja, 8 mol L⁻¹.

Para calcular o efeito resultante da interação entre as variáveis, os sinais das colunas A e B são somados e o resultado obtido é adicionado à coluna “interações”, conforme a Tabela 4.^{102,103}

Tabela 4. Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas: efeito da interação do HCl e NaBH_4 na intensidade de emissão.

Experimento	A	B	Interações	Intensidade (cps)*
1	-	-	+	1284
2	+	-	-	2457
3	-	+	-	1398
4	+	+	+	2834

Fatores: A: concentração de NaBH_4 (% m/v); B: concentração de HCl (mol L⁻¹). Valores: mínimo (-); máximo (+). A: 1,0% m/v (-) e 1,5% m/v (+); B: 4,0 mol L⁻¹ (-) e 8,0 mol L⁻¹ (+).

* intensidade média (n=2)

O efeito resultante entre as variáveis será, portanto:

$$E_{\text{HCl-NaBH}_4} = \left(\frac{1284+2834}{2} \right) - \left(\frac{2457+1398}{2} \right)$$

$$E_{\text{HCl-NaBH}_4} = 131,5 \text{ cps}$$

Uma vez obtidos os valores de todos os efeitos, a próxima etapa consiste em realizar uma estimativa do erro experimental. Como os ensaios foram realizados em duplicatas, tem-se uma estimativa da variância com apenas um grau de liberdade, que pode ser obtida conforme Barros Neto et al.¹⁰²:

$$S^2 = \frac{(V_1 \cdot S_1^2 + V_2 \cdot S_2^2 + \dots + V_i \cdot S_i^2)}{(V_1 + V_2 + \dots + V_i)} \quad (\text{III})$$

onde, S^2 é a estimativa conjunta da variância experimental; $V_i = n_i - 1$ graus de liberdade de S_i^2 , a estimativa da variância do i -ésimo ensaio (desvio padrão amostral elevado ao quadrado).

Os dados completos originais do presente exemplo são apresentados na Tabela 5 a seguir.

Tabela 5. Dados completos do presente exemplo da matriz de planejamento.

Experimento	A	B	Intensidade 1º replicata (cps)	Intensidade 2º replicata (cps)	Intensidade Média (cps)	S_i^2
1	-	-	1280	1288	1284	32
2	+	-	2453	2461	2457	32
3	-	+	1396	1400	1398	8
4	+	+	2833	2835	2834	2

Fatores: A: concentração de NaBH_4 (% m/v); B: concentração de HCl (mol L^{-1}). Valores: mínimo (-); máximo (+). A: 1,0% m/v (-) e 1,5% m/v (+); B: 4,0 mol L^{-1} (-) e 8,0 mol L^{-1} (+).

Aplicando III, temos, portanto:

$$S^2 = \frac{(32 + 32 + 8 + 2)}{(4)} \quad (4)$$

$$S^2 = 18,5$$

De acordo com Barros Neto et al.¹⁰², tirando a raiz quadrada deste valor, obtemos uma estimativa (com quatro graus de liberdade) do desvio padrão associado a uma observação, isto é, do erro experimental característico, ou erro padrão das respostas obtidas:

$S = 4,30$ é o erro padrão

Entretanto, para o cálculo do erro padrão de um efeito¹⁰², aplicamos a equação:

$$S(\text{efeito}) = \sqrt{\frac{S}{2}} \quad (\text{IV})$$

substituindo, temos $S(\text{efeito}) = \sqrt{\frac{4,3}{2}}$ e $S(\text{efeito}) = 1,5$

Os valores dos efeitos são, portanto:

Efeitos principais:

$$E_{\text{NaNH}_4} = 1304,5 \pm 1,5 \text{ cps}$$

$$E_{\text{HCl}} = 245,5 \pm 1,5 \text{ cps}$$

Efeitos de interação:

$$E_{\text{NaNH}_4\text{-HCl}} = 131,5 \pm 1,5 \text{ cps}$$

Finalizando, é considerado estatisticamente significativo, com 95% de confiança, um efeito cujo valor absoluto for superior a $t_{4.s(\text{efeito})}$ onde o valor de t de Student, para 4 graus de liberdade é igual a 2,776. Substituindo, temos portanto: $2,776 \cdot 1,5 = 4,2$ cps, ou seja, todos os efeitos são estatisticamente significativos.

O gráfico de Pareto é então construído (Figura 23) para melhor visualizar os efeitos. O valor 4,2 é mostrado através de uma linha (amarela) na vertical.

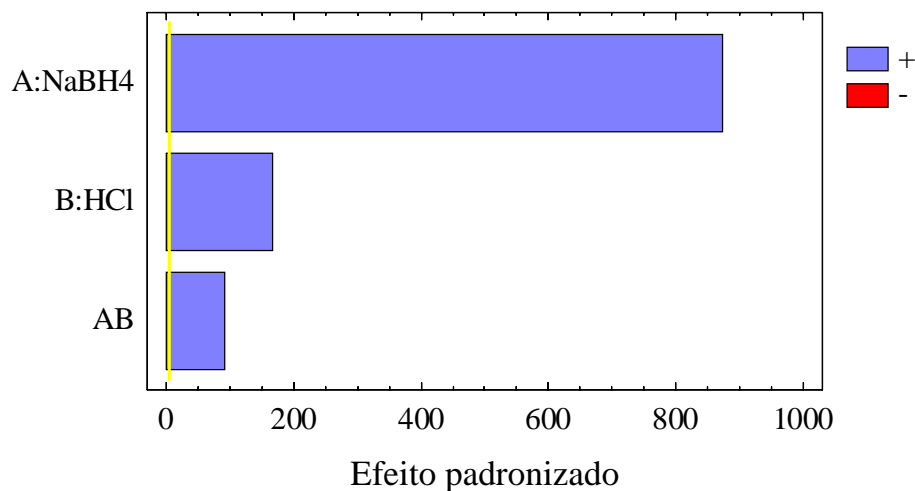


Figura 23. Gráfico de Pareto para o exemplo dado.

A interpretação final é que, para se obter um máximo de sensibilidade para o As(III), em nosso exemplo, as concentrações a serem adotadas devem ser as máximas, ou seja, NaBH₄ 1,5% m/v e HCl 8 mol L⁻¹.

No presente trabalho, as seguintes variáveis foram otimizadas:

Para o caso da determinação de *Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos* as variáveis: Potência RF, vazão do gás de arraste argônio, concentração do agente redutor NaBH₄ e do HCl.

No procedimento de determinação simultânea de *As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos* e determinação simultânea de *Hg e Se em amostras biológicas*, apenas as variáveis envolvendo diferentes concentrações de HCl e NaBH₄.

Para o caso da determinação simultânea de *Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos*: as concentrações do (NH₄)₂S₂O₈, ácido tartárico e NaBH₄.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinação de Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos

4.1.1. Otimização das condições instrumentais - análise fatorial

Duas condições para a CVG (concentrações do HCl e do NaBH₄) juntamente com dois parâmetros instrumentais (potência RF e vazão do gás de arraste) foram otimizados através da análise fatorial com a aplicação do programa estatístico descrito no item 3.5. Para evitar a extinção do plasma durante a análise, as vazões do gás do plasma e do gás auxiliar, foram mantidas constantes e idênticas às aquelas normalmente utilizadas no sistema de nebulização convencional, como apresentadas na Tabela 2 (p. 29). O sistema de geração química de vapor possui a rotação da bomba peristáltica constante, 50 rpm, combinada com a mesma rotação da bomba peristáltica que controla o dreno do separador de fases (item 10, Figura 21, p. 30), desta maneira são evitadas diferenças de pressões e conseqüentemente a extinção do plasma. Assim, as quatro condições selecionadas a serem otimizadas, poderiam sofrer variações sem o risco de extinção do plasma. A análise fatorial completa foi realizada com a utilização do software Statgraphics Plus 5.0 através de uma solução padrão de Hg de 1 µg L⁻¹ em HNO₃ 10% v/v. A matriz e a intensidade do sinal de emissão para cada experimento com os valores mínimos, máximos e ponto central estabelecidos para os 4 fatores estudados são mostrados na Tabela 6 (p. 45). O gráfico de Pareto para os efeitos principais e combinações é apresentado na Figura 24 (p. 45), no qual o comprimento da barra é proporcional ao valor absoluto do efeito estimado. Desta maneira, a importância relativa dos efeitos pode ser facilmente comparada. O valor mínimo de t a um nível de confiança de 95% é 2,42, representado como uma linha vertical no gráfico de Pareto. Um parâmetro é considerado significativo quando o valor calculado é $\geq \pm t$.^{101,102}

De acordo com a Figura 24, o efeito da potência RF foi o único fator estatisticamente significativo, sendo o mais importante dos parâmetros estudados (barra A, efeito positivo). Como o plasma torna-se mais energético, a população dos átomos e/ou íons excitados aumenta, elevando a emissão de radiação e conseqüentemente a intensidade do sinal. Portanto, quanto maior a potência RF, maior a sensibilidade obtida. No equipamento, potência RF de até 1,5 kW pode ser

empregada, entretanto para garantir um maior tempo de vida útil do sistema RF, a potência de 1,2 kW foi selecionada. Esta potência é a normalmente utilizada em trabalhos de rotina no laboratório.

Tabela 6. Matriz de planejamento para identificação das variáveis significativas na determinação de Hg por CVG - ICP OES em 253,652 nm.

Experimento	A	B	C	D	Intensidade, cps
1	-	-	-	-	448
2	+	-	-	-	605
3	-	+	-	-	506
4	+	+	-	-	597
5	-	-	+	-	498
6	+	-	+	-	633
7	-	+	+	-	498
8	+	+	+	-	650
9	CP	CP	CP	CP	636
10	-	-	-	+	465
11	+	-	-	+	616
12	-	+	-	+	489
13	+	+	-	+	611
14	-	-	+	+	490
15	+	-	+	+	531
16	-	+	+	+	594
17	+	+	+	+	691

Fatores: A: potência RF (kW); B: Vazão do gás de arraste (mL min^{-1}); C: concentração de NaBH_4 (% m/v); D: concentração de HCl (mol L^{-1}). Valores: mínimo (-); máximo (+); ponto central (CP). A: 1,0 kW (-), 1,2 kW (+), 1,1 kW (CP); B: $90,0 \text{ mL min}^{-1}$ (-), 150 mL min^{-1} (+), 120 mL min^{-1} (CP); C: 0,6 % m/v (-), 1,0 % m/v (+), 0,8 % m/v (CP); D: 2 mol L^{-1} (-), 6 mol L^{-1} (+), 4 mol L^{-1} (CP).

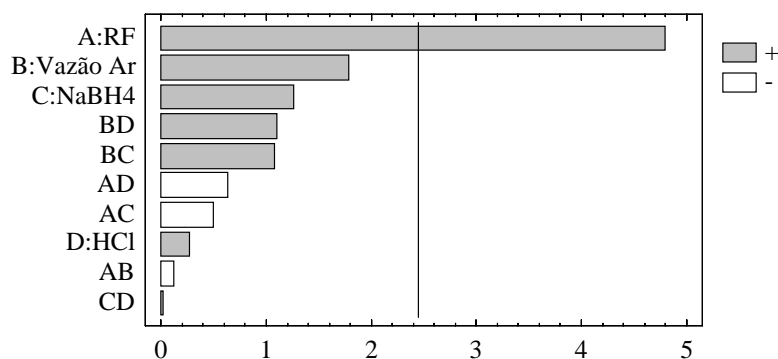


Figura 24. Gráfico de Pareto com os seguintes fatores: A, potência RF (kW); B, vazão do gás de arraste (argônio, mL min^{-1}); C, concentração de NaBH_4 (% m/v); D, concentração de HCl (mol L^{-1}).

A vazão do gás de arraste (barra B, efeito positivo) não apresentou efeito estatisticamente significativo, sendo menos importante que a potência RF, contudo mais importante que as concentrações de HCl e NaBH₄. A maior vazão empregada, de 150 mL min⁻¹, produziu turbulência no separador de fases do sistema CVG. Por esta razão, a vazão de 120 mL min⁻¹ foi a selecionada.

O efeito das concentrações do NaBH₄ (barra C) e HCl (barra D) não foram estatisticamente significativos, sendo menos importantes que os parâmetros instrumentais anteriormente discutidos. Contudo, apresentaram um efeito positivo, indicando que uma maior sensibilidade poderá ser obtida em maiores concentrações do ácido e do agente redutor. Assim, as maiores concentrações, 6 mol L⁻¹ de HCl e 1% m/v de NaBH₄ (em NaOH 0,4% m/v) foram adotadas.

4.1.2. Parâmetros de mérito

Curvas de calibração, no mesmo meio das suspensões, utilizando soluções padrão aquosas de Hg (II) na faixa de 0,5 a 10 µg L⁻¹ foram preparadas empregando as condições selecionadas. Os parâmetros de mérito para os cinco procedimentos de preparo das suspensões são apresentados na Tabela 7 (p. 47). Os coeficientes de correlação lineares foram ≥ 0,999, com exceção para o Procedimento 5. O limite de detecção (LOD), definido como a relação entre três vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco, dividido pela inclinação da curva de calibração apresentou valores na faixa de 0,03 a 0,06 µg g⁻¹, considerando a massa da amostra de 30 mg no volume final de 15 mL. O limite de quantificação (LOQ), definido como três vezes o LOD,¹⁶ foi adequado para as análises das amostras certificadas de origem ambiental e biológica, empregando o Procedimento 3 de preparação das suspensões, sendo o valor de 0,12 µg g⁻¹. As inclinações das curvas de calibração, obtidas em dias diferentes, foram similares para os Procedimentos 1-3, contudo diferentes dos dois últimos que se apresentaram com menores valores, indicando menores sensibilidades.

Tabela 7. Parâmetros de mérito para os cinco procedimentos de preparo das suspensões. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões para o Hg na faixa de concentração de 0,5-10 $\mu\text{g L}^{-1}$. LOD para 3 s e n = 10.

Parâmetro	Proced. 1 água régia + HF	Proced. 2 água régia + HF	Proced. 3 água régia	Proced. 4 HNO ₃	Proced. 5 TMAH
coef. correlação	0,999	0,999	0,999	0,999	0,997
inclinação, (s $\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	589	567	585	516	513
LOD ^a , $\mu\text{g g}^{-1}$	0,03	0,05	0,04	0,05	0,06

^aLOD para 30 mg da amostra sólida em um volume final de 15 mL de suspensão.

4.1.3. Aplicação analítica

Os cinco procedimentos de preparação foram aplicados nas seguintes amostras de referência certificadas: BCR 186, DOLT-2, TORT-2, amostras de tecido de peixe (340, 341, 342 e 343), CRM 144R, CRM 146R, PACS-2 e RS-3. As suspensões também foram filtradas através de uma membrana de acetato de celulose de 0,45 μm em sistema de filtração a vácuo. As suspensões e os filtrados foram analisadas separadamente, utilizando as mesmas curvas de calibração. Os resultados são mostrados na Tabela 8 (p. 48), sendo que os valores que estão em concordância com os certificados, a um nível de confiança de 95% de acordo com o teste *t*, estão em negrito.^{97,101}

O uso do antiespumante Antifoam A, que é um polímero de silicone, foi importante para estabilizar e homogeneizar as suspensões, evitando-se a agregação das partículas e minimizando a formação de espuma decorrente da reação com o NaBH₄.³⁷

De acordo com a Tabela 8, o **Procedimento 1**, em relação às suspensões, apresentou a maioria dos resultados em concordância com os valores certificados a um nível de confiança de 95%, de acordo com o teste *t*, com exceção das amostras 343 (tecido de peixe) e PACS-2. As recuperações dos valores certificados foram de 87 a 126%. Entretanto, se o valor obtido para DOLT-2 for negligenciado, as recuperações passam para a faixa de 87 a 114%. Para os filtrados, as recuperações estão na faixa de 88 a 110%, se o valor para DOLT-2, o qual foi de 129% for novamente excluído. Com exceção das concentrações para a amostra PACS-2, as demais obtidas para os filtrados estiveram em concordância com os valores certificados, demonstrando que as condições foram drásticas o suficiente para

Tabela 8. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg nas amostras de referência certificadas com amostragem em suspensão e filtrados, n=3.

Amostra	Certificado	Procedimento 1		Procedimento 2		Procedimento 3		Procedimento 4		Procedimento 5	
		Suspensão	Filtrado	Suspensão	Filtrado	Suspensão	Filtrado	Suspensão	Filtrado	Suspensão	Filtrado
BCR 186	1,97 ± 0,04	2,02 ± 0,03	2,10 ± 0,24	1,98 ± 0,11	2,01 ± 0,03	2,04 ± 0,10	1,85 ± 0,03	1,90 ± 0,02	1,34 ± 0,04	1,36 ± 0,03	1,11 ± 0,06
DOLT-2	2,14 ± 0,28	2,70 ± 0,29	2,75 ± 0,51	2,25 ± 0,04	2,14 ± 0,08	2,63 ± 0,20	2,16 ± 0,28	1,66 ± 0,11	1,34 ± 0,01	1,49 ± 0,05	1,42 ± 0,01
340	0,30 ± 0,05 ^a	0,34 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,31 ± 0,04	0,32 ± 0,04	0,25 ± 0,07	0,22 ± 0,01	< LOQ	0,20 ± 0,05	< LOQ
341	0,56 ± 0,08 ^a	0,61 ± 0,02	0,58 ± 0,11	0,52 ± 0,05	0,49 ± 0,05	0,60 ± 0,06	0,42 ± 0,05	0,23 ± 0,04	0,16 ± 0,03	0,22 ± 0,02	< LOQ
342	0,84 ± 0,10 ^a	0,80 ± 0,02	0,82 ± 0,15	0,81 ± 0,06	0,78 ± 0,08	0,88 ± 0,08	0,71 ± 0,05	0,42 ± 0,07	0,35 ± 0,06	0,47 ± 0,08	< LOQ
343	0,50 ± 0,09 ^a	0,57 ± 0,01	0,53 ± 0,05	0,48 ± 0,05	0,46 ± 0,04	0,51 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,20 ± 0,05	< LOQ
TORT-2	0,27 ± 0,06	0,26 ± 0,03	0,25 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,18 ± 0,03	< LOQ	0,22 ± 0,04	< LOQ
CRM 144R	3,14 ± 0,23	2,97 ± 0,13	3,11 ± 0,03	3,13 ± 0,06	3,24 ± 0,07	2,95 ± 0,11	3,00 ± 0,01	1,56 ± 0,14	1,00 ± 0,09	0,52 ± 0,01	0,35 ± 0,01
CRM 146R	8,62 ± 0,33	8,74 ± 0,39	8,60 ± 0,15	9,04 ± 0,02	7,63 ± 0,28	9,20 ± 0,25	7,74 ± 0,14	5,79 ± 0,04	4,17 ± 0,06	1,05 ± 0,07	< LOQ
PACS-2	3,04 ± 0,20	2,64 ± 0,11	2,69 ± 0,05	3,09 ± 0,22	3,03 ± 0,03	3,31 ± 0,22	2,85 ± 0,08	3,00 ± 0,02	2,35 ± 0,03	0,86 ± 0,09	0,29 ± 0,01
RS-3	10,34 ± 0,14	10,1 ± 0,25	10,0 ± 0,28	9,57 ± 0,32	9,68 ± 0,13	10,03 ± 0,39	10,41 ± 0,23	8,69 ± 0,33	5,27 ± 0,42	1,97 ± 0,28	0,87 ± 0,09
RSD ^b , %	2,0 – 18,0	1,8 – 11,5	1,0 – 20,0	0,2 – 14,3	1,0 – 12,9	2,7 – 12,5	0,3 – 28,0	0,7 – 17,4	0,2 – 20,0	1,9 – 25,0	0,7 – 10
Recuperação%	100	87 – 126	88 – 129	78 – 110	70 – 103	93 – 123	75 – 101	41 – 99	29 – 77	0 – 81	0 – 66

Os resultados em negrito estão em concordância com os valores certificados a um nível de confiança de 95%, de acordo com o teste *t*.

^a concentrações obtidas nas amostras de tecido de peixes do programa de proficiência (134 laboratórios) organizado pela Canadian Food Agency.

^b desvio padrão relativo.

^c <LOQ: menor do que o limite de quantificação.

extrair quantitativamente todo o Hg para a fase líquida, sem, contudo dissolver totalmente as partículas sólidas das suspensões. Os desvios padrão relativos estiveram na faixa de 1,8 a 11,5% e 1,0 a 20,0% para as suspensões e filtrados. A precisão pode ser considerada especialmente adequada, em se tratando de análise com amostragem em suspensão.

Desempenho similar pode ser atribuído aos **Procedimentos 2 e 3** para as suspensões, de acordo com as faixas de recuperações e desvios padrão relativos apresentados na Tabela 8, significando que não há necessidade da etapa que envolve o período de repouso de 24 h seguido do tratamento com o ultra-som descrito no **Procedimento 1** ou a utilização do HF (**Procedimentos 1 e 2**). O **Procedimento 2** forneceu os resultados para as suspensões (exceto para DOLT-2 e CRM 146R) e para os filtrados (exceto para TORT-2, CRM 146R e RS-3), em concordância com os valores certificados a um nível de confiança de 95% (teste *t*). Já para o **Procedimento 3**, as recuperações dos valores certificados estiveram na faixa de 93 a 107%, se o valor da amostra DOLT-2 de 123% for negligenciada. Bons resultados também foram obtidos em relação à precisão, com os desvios padrão relativos na faixa de 2,7 a 12,5%, estando todos os resultados obtidos para as suspensões em concordância com os valores certificados ou valores informados, a um nível de confiança de 95%, de acordo com o teste *t*. Já os resultados obtidos para os filtrados são, na maior parte dos casos, estatisticamente menores que os valores certificados, indicando que parte do Hg permanece adsorvido nas partículas, não sendo totalmente extraído para a fase líquida. Através da utilização deste procedimento, a contribuição da fase sólida da suspensão aos resultados analíticos ficou evidente. Com certeza, o **Procedimento 3** é o mais adequado pela sua simplicidade, velocidade e conveniência. Outra vantagem é a não necessidade da utilização do HF, evitando, portanto, o ataque às partes de vidro e quartzo, tais como a tocha e o separador de fases do sistema CVG - ICP OES.

Através do emprego do HNO₃ (**Procedimento 4**) e TMAH (**Procedimento 5**), as recuperações dos valores certificados para a maioria das amostras foram baixas, como mostrado na Tabela 8, com exceção da PACS-2 (**Procedimento 4**), 340 e TORT-2 (**Procedimento 5**) nas suspensões. É provável que parte do Hg tenha

permanecido ocluído nas partículas sólidas, não reagindo com o NaBH_4 . As suspensões preparadas com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) (**Procedimento 5**) em contato com o HCl e NaBH_4 , formaram precipitados no separador de fases que também poderiam ser os responsáveis por reter parte do Hg, impedindo a sua volatilização e, conseqüentemente, originando o baixo rendimento analítico. Por outro lado, o TMAH é um reagente capaz de solubilizar tecidos biológicos e, apesar do fraco desempenho, as suspensões das amostras biológicas apresentaram-se homogêneas e estáveis, merecendo estudos adicionais. Os filtrados para os **Procedimentos 4 e 5**, apresentaram resultados do Hg com valores baixos, alguns menores que os limites de quantificação, mostrando que a extração para a fase líquida da suspensão não é quantitativa.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 8, os primeiros três métodos de preparação das suspensões podem ser utilizados para a determinação do Hg, contudo os últimos dois procedimentos não produziram resultados satisfatórios, isto é, não são adequados. Os dois primeiros procedimentos podem ser empregados com ou sem filtração. Entretanto, o procedimento 3 é o mais recomendado, pois não necessita a adição de HF nem o período de repouso de 24 h.

Decorrente deste estudo, também foi observado que as partículas, principalmente de sedimentos e lodos, sofrem uma diminuição em seu tamanho original após a ação conjunta do ultra-som e dos reagentes, principalmente quando ácidos são empregados no preparo das suspensões. Já para as amostras biológicas, com exceção do procedimento que utiliza o TMAH, as partículas tendem a se aglomerar, o que, no entanto é amenizado pela ação do agente antiespumante Antifoam A.

Desta maneira, aproveitando a capacidade multielementar que a técnica ICP OES oferece, o **Procedimento 3** foi testado para outros analitos utilizando as amostras com as partículas em seus tamanhos originais, sendo o estudo descrito a seguir no item 4.2.

4.2. Determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos

4.2.1. Otimização das condições instrumentais - análise fatorial

Em CVG, é importante considerar o número de oxidação dos elementos formadores de hidretos. Assim, para As, Sb e Se, a conversão a menores estados de oxidação, As(III), Sb(III), e Se(IV) é necessária, sendo mais crítico para o Se, já que Se(VI) praticamente não é convertido ao hidreto correspondente. No caso do Sn, o mais adequado é o Sn(IV).^{22,23} As condições instrumentais otimizadas para a determinação do Hg descritas no item 4.1.1, ou seja, potência RF e vazão do gás de arraste, foram mantidas. As duas condições para a CVG, concentrações do HCl e NaBH₄, foram otimizadas. A análise fatorial completa foi realizada com a utilização do software Statgraphics Plus 5.0 através de uma solução padrão de 50 µg L⁻¹ de As(III), Hg(II), Sb(III), Se(IV) e Sn(IV), em água régia 10% v/v e uma suspensão da amostra de referência certificada SRM 2702 (sedimento marinho), contendo 30 mg de amostra em um volume final de 15 mL preparada de acordo com o *Procedimento 3*, item 3.3.1. (p. 32), com aproximadamente 90 µg L⁻¹ de As, 0,9 µg L⁻¹ de Hg, 11 µg L⁻¹ de Sb, 10 µg L⁻¹ de Se e 63 µg L⁻¹ de Sn. A matriz e a intensidade do sinal de emissão para cada experimento com os valores mínimos, máximos e ponto central estabelecidos para os 2 fatores estudados são apresentados na Tabela 9 (p. 53). O gráfico de Pareto para os efeitos principais e combinações é apresentado na Figura 25 (p. 54) sendo o valor mínimo de *t*, 4,25 a um nível de confiança de 95%, representado como uma linha vertical.

De acordo com a Figura 25, o comportamento dos analitos na suspensão e solução padrão foram similares na maioria dos casos, com exceção do As e Sb. A eficiência de formação do hidreto do As na suspensão é bastante influenciada, positiva e significativamente, pelas concentrações do NaBH₄ e HCl, o mesmo ocorrendo com o hidreto de Sb, mas, a partir da solução padrão. Entretanto, nestas condições, concentrações do agente redutor maiores que 1,5% m/v, produzem intensa turbulência no separador de fases do sistema CVG devido ao excesso de H₂ produzido, causando a instabilidade do plasma e a sua extinção. Por outro lado, a concentração do HCl apresentou um efeito negativo e significativo na formação do hidreto de Sn. A eficiência de formação do SnH₄ é influenciada pela presença de

elevadas concentrações do HCl, o qual atua reduzindo o Sn^{4+} para Sn^{2+} .¹⁰⁴ Desta maneira, foram definidas a concentração máxima de NaBH_4 (1,5% m/v em NaOH 0,4% m/v) e a intermediária de HCl (6 mol L^{-1}), para a determinação simultânea destes elementos, embora com baixa sensibilidade para o Sn, mas adequada para as amostras de sedimentos, as quais, na maioria das vezes apresentam concentrações elevadas deste analito.

Tabela 9. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significativas na determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn por CVG – ICP OES.

experi- mento	A	B	Intensidade, cps									
			As		Hg		Sb		Se		Sn	
			padrão	suspensão	Padrão	suspensão	Padrão	suspensão	padrão	Suspensão	padrão	suspensão
1	-	-	1284	854	32231	440	5129	1125	2844	182	366	111
2	+	-	2457	2418	32707	459	6402	1408	3858	373	591	726
3	CP	CP	2123	1778	32189	420	5838	1199	3288	310	417	335
4	-	+	1398	1029	32834	520	5116	1050	3091	239	241	39
5	+	+	2834	2945	34754	630	6683	1553	4112	389	420	410

Fatores: A: NaBH₄ (% m/v); B: HCl (mol.L⁻¹). Valores: mínimo (-); máximo (+); ponto central (CP). A: 1,0 % m/v (-), 1,50 % m/v (+), 1,25 % m/v (CP); B: 4 mol L⁻¹ (-), 8 mol L⁻¹ (+), 6 mol L⁻¹ (CP).

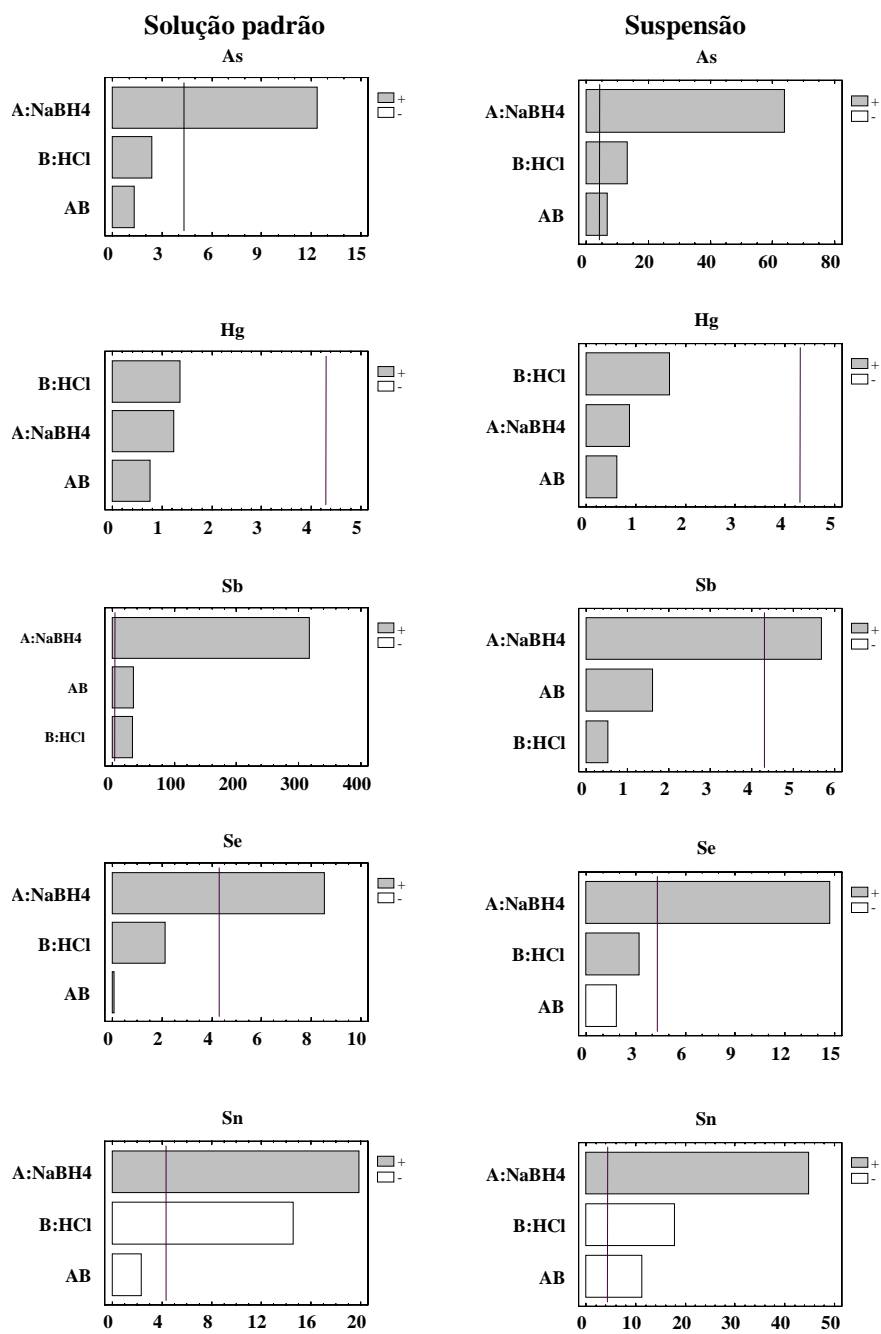


Figura 25. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH₄ (% m/v); B, concentração de HCl (mol L⁻¹).

4.2.2. Parâmetros de mérito

Curvas de calibração, no mesmo meio das suspensões, utilizando soluções padrão aquosas na faixa de 0,5 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II), Sb(III), Se(IV) e 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e Sn(IV) foram preparadas, empregando as condições selecionadas. Os parâmetros de mérito são apresentados na Tabela 10. Os coeficientes de correlação lineares foram $\geq 0,999$ para todos os analitos. Os LOD e LOQ (previamente definidos no item 4.1.2, p. 46), foram obtidos considerando a massa da amostra de 30 mg no volume final de 15 mL. Os LOD se apresentaram abaixo de 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, exceto para o Sn (4 $\mu\text{g g}^{-1}$) como esperado devido à baixa sensibilidade. Os LOQ, em $\mu\text{g g}^{-1}$: 0,75 (As); 0,12 (Hg); 0,40 (Sb); 0,12 (Se) e 12 (Sn), foram adequados para as análises das amostras certificadas e reais de sedimentos.

Tabela 10. Parâmetros de mérito para As, Hg, Sb, Se e Sn. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões com 0,5 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II), Sb(III), Se(IV) e 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e Sn(IV), LOD para 3 s e n = 10.

Parâmetro	Analitos				
	As	Hg	Sb	Se	Sn
coef. correlação	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
inclinação, (s $\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	54	632	59	72	3
LOD ^a , $\mu\text{g g}^{-1}$	0,25	0,04	0,13	0,04	4

^aLOD para 30 mg da amostra sólida em um volume final de 15 mL de suspensão.

4.2.3. Influência da frequência ultra-sônica

O efeito da frequência ultra-sônica na extração dos analitos para a fase líquida das suspensões foi investigado, avaliando-se dois sistemas: de 25 kHz e de 40 kHz. Da literatura, já é conhecido que quanto maior a eficiência de extração do ultra-som, maior é a precisão do método.¹⁰⁵ Para este estudo, inicialmente 12 replicatas de suspensões da amostra SRM 2702 foram preparadas (aproximadamente 20 mg em 15 mL⁻¹, aplicando o procedimento 3, item 3.3.1, p. 32) e distribuídas nos sistemas de ultra-som conforme a Figura 26 (p. 56), sendo o experimento realizado em duplicata. O mesmo experimento foi realizado, mas filtrando-se as suspensões através de uma membrana de acetato de celulose de 0,45 μm em sistema de filtração a vácuo. As suspensões e os filtrados foram então analisadas separadamente, utilizando as mesmas curvas de calibração e os resultados são apresentados na Tabela 11 (p. 56).

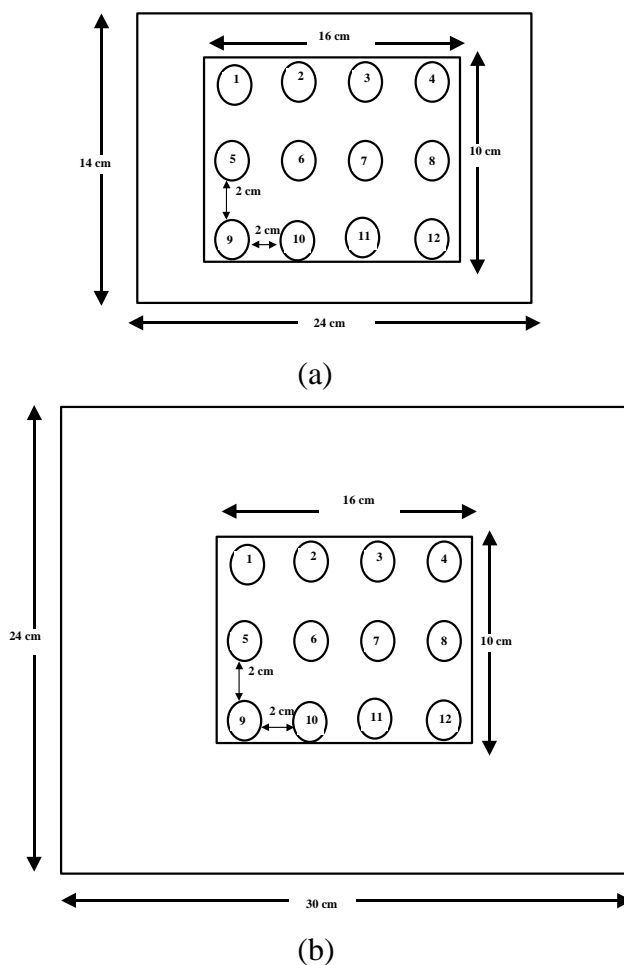


Figura 26. Posição dos tubos dentro do banho nos sistemas de ultra-som para (a) Odontobrás, modelo 1440 DA (40 kHz) e (b) Thorton, modelo USC-2850A (25 kHz); 1 – 12 correspondem as diferentes posições dos frascos de 15 mL contendo as suspensões.

Tabela 11. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, nas suspensões e filtrados com 40 kHz e 25 kHz ($n = 24$).

Analitos	Valores certificados NIST 2702 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	US 1440D 40 kHz ($\mu\text{g g}^{-1}$)		US 2850 A 25 kHz ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		Suspensão	Filtrado	Suspensão	Filtrado
As	$45,3 \pm 1,8$	$29,3 \pm 1,4$	$42,8 \pm 1,6$	$28,5 \pm 0,3$	$35,9 \pm 0,5$
Hg	$0,4474 \pm 0,0069$	$0,439 \pm 0,022$	$0,488 \pm 0,014$	$0,435 \pm 0,032$	$0,357 \pm 0,020$
Sb	$5,60 \pm 0,24$	$5,18 \pm 0,30$	$0,50 \pm 0,05$	$5,20 \pm 0,24$	$0,47 \pm 0,04$
Se	$4,95 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,07$	$4,22 \pm 0,15$	$2,10 \pm 0,04$	$2,84 \pm 0,05$
Sn	$31,6 \pm 2,4$	$30,8 \pm 3,1$	$30,9 \pm 2,1$	$30,6 \pm 3,3$	$31,7 \pm 2,1$
	RSD, %	3 – 10	3 – 10	1 – 11	1-9

Os resultados obtidos e apresentados na Tabela 11, não indicaram uma influência significativa na posição das amostras dentro dos banhos nos diferentes sistemas de ultra-som empregados, apresentando valores dos desvios padrão relativos, entre 1 a 11%.

Ficou evidente que o sistema ultra-som de maior frequência, ou seja, 40 kHz, é capaz de extrair com maior eficiência para a fase líquida As, Hg e Se. Entretanto, similar eficiência foi obtida para os analitos Sb e Sn em ambos os sistemas. No caso do Sb, pode ser observado que a maior parte deste analito permanece adsorvido nas partículas, ou seja, apenas os resultados obtidos para as suspensões estão de acordo com o valor certificado. Já no caso do Sn, praticamente as mesmas concentrações dos valores certificados foram obtidas, tanto nas suspensões quanto nos filtrados, significando que uma extração total deste analito ocorreu para a fase líquida. Os resultados obtidos para o As e Se foram muito interessantes, pois as análises das suspensões forneceram resultados menores que as análises dos filtrados, indicando a presença de interferência não espectral devido à matriz da amostra. Uma possibilidade para eliminar este problema é a aplicação da técnica de calibração através da adição do analito, utilizada por VIEIRA et al.⁷⁶ e RIBEIRO et al.⁸⁷ na determinação do As por CVG-ICP-MS, obtendo-se bons resultados. Entretanto, a possibilidade da calibração externa através do uso de um padrão interno foi investigada e descrita a seguir. O sistema ultra-som de 40 kHz foi adotado em todos os experimentos.

4.2.4. Escolha do padrão interno

O método da calibração externa com padrão interno tem sido largamente utilizado em ICP OES no sistema convencional de nebulização, inclusive na amostragem em suspensão.^{44, 106} Entretanto, de acordo com nossos conhecimentos, esta técnica ainda não tinha sido aplicada em CVG - ICP OES com amostragem em suspensão. Uma das razões pode ser atribuída ao fato do padrão interno e o analito terem obrigatoriamente que possuir as mesmas propriedades de formação das espécies voláteis. Também é importante que a concentração do padrão interno na

amostra seja previamente conhecida ou não detectável, sendo difícil, portanto, definir um elemento que atenda a estes requisitos. Entretanto, apesar das dificuldades apresentadas, Bi(III) e Ge(IV) foram investigados, por causa das suas baixas concentrações normalmente presentes em amostras de sedimentos, bem como da possibilidade apresentada por estes elementos de formarem hidretos em condições similares aos do As(III) e Se(IV).^{104,107}

Desta maneira, foram adicionados 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi(III) e Ge(IV), separadamente, nas suspensões da amostra SRM 2702 e nas soluções padrão de calibração. As razões das intensidades foram obtidas empregando-se os comprimentos de onda do Bi(III) 223,061 nm e Ge(IV) 219,871 nm. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Concentrações, em $\mu\text{g g}^{-1}$, obtidas com a utilização do Ge(IV) e Bi(III) como padrão internos para a determinação de As e Se na amostra de sedimento marinho SRM 2702, n=3.

Analito	Certificado	Sem padrão interno	Bi 223,061nm	Ge 219,871 nm
As	45,3 \pm 1,8	29,3 \pm 1,4	20,3 \pm 1,3	45,7 \pm 2,3
Se	4,95 \pm 0,46	2,20 \pm 0,07	1,08 \pm 0,06	4,75 \pm 0,26

Os resultados apresentados na Tabela 12 mostram que o Ge(IV) foi eficiente como padrão interno para o As e Se, compensando a interferência não espectral devida a matriz da amostra. De acordo com o teste *t*, os valores encontrados foram concordantes com os certificados em um nível de confiança de 95% e os desvios padrão relativos apresentaram-se com valores menores que 5%, que é uma excelente precisão, considerando-se a amostragem em suspensão.

De acordo com NOLTE¹⁶, para garantir uma boa reprodutibilidade, o padrão interno deverá ser adicionado em concentrações adequadas. Assim, crescentes concentrações deste elemento (10 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) foram adicionadas às suspensões da amostra SRM 2702 e nas soluções padrão de calibração. Os resultados, apresentados na Figura 27, demonstram que concentrações a partir de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Ge(IV) são eficazes para este propósito.

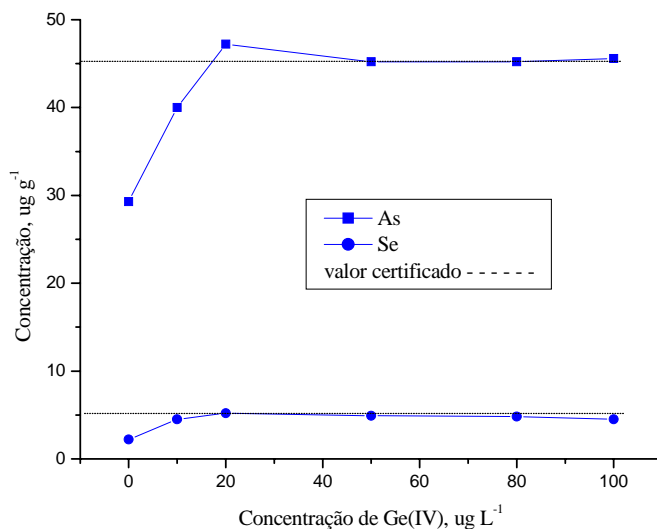


Figura 27. Efeito do Ge(IV) em 219,871 nm, como padrão interno, na determinação de As e Se na amostra de referência certificada SRM 2702.

4.2.5. Aplicação analítica

O procedimento envolvendo a adição do padrão interno Ge(IV) foi aplicado nas seguintes amostras de referência certificadas: SRM 2702, PACS-2, HISS-1, RS-3 e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de As, Hg, Sb, Se e Sn nas amostras de sedimentos, com calibração externa e padronização interna com Ge(IV) para As e Se, n=3.

Amostras		As	Hg	Sb	Se	Sn
SRM-2702	Encontrado	$45,7 \pm 0,9$	$0,467 \pm 0,084$	$5,3 \pm 0,20$	$4,92 \pm 0,26$	$30,8 \pm 0,9$
	Certificado	$45,3 \pm 1,8$	$0,4474 \pm 0,0069$	$5,6 \pm 0,24$	$4,95 \pm 0,46$	$31,6 \pm 2,4$
PACS-2	Encontrado	$26,9 \pm 2,6$	$2,93 \pm 0,05$	$11,8 \pm 1,4$	$1,08 \pm 0,16$	$18,0 \pm 0,8$
	Certificado	$26,2 \pm 1,5$	$3,04 \pm 0,2$	$11,3 \pm 2,6$	$0,92 \pm 0,22$	$19,8 \pm 2,5$
HISS-1	Encontrado	$0,81 \pm 0,09$	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	Certificado	$0,801 \pm 0,099$	0,010	0,13	$0,05 \pm 0,007$	0,11
RS-3	Encontrado	$17,2 \pm 0,6$	$9,73 \pm 0,71$	$5,37 \pm 0,17$	$1,86 \pm 0,12$	$12,6 \pm 1,9$
	Certificado	$16,4 \pm 0,5$	$10,34 \pm 0,14$	a	a	$13,0 \pm 0,7$
	RSD, %	2-11	2-18	4-12	5-15	3-15
	Recuperação, %	101-105	94-104	95-104	100-117	91-97

^a valores não certificados.

< LOQ: menor do que o limite de quantificação.

De acordo com o teste *t*, todos os valores estão concordantes com os certificados, a um nível de confiança de 95%. Para a amostra HISS-1, somente o As foi determinado, pois os demais elementos encontram-se com valores das concentrações abaixo dos LOQ do método. Os desvios padrão relativos apresentaram-se abaixo de 18%, indicando aceitável precisão, sendo o presente método adequado para amostras de sedimentos.

Amostras de sedimentos coletadas em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, também foram analisadas através do procedimento proposto. Os resultados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de As, Hg, Sb, Se e Sn nas amostras de sedimentos, coletados em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, n=3.

Amostras	As	Hg	Sb	Se	Sn
Reservatório Irai	6,6 ± 0,7	<LOQ	0,40 ± 0,01	0,21 ± 0,03	<LOQ
Rio Irai (Pinhais – a)	2,1 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	0,65 ± 0,07	<LOQ
Rio Irai (Pinhais – b)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Rio Timbú	2,2 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Rio Iguaçu (zoológico)	2,3 ± 0,1	0,13 ± 0,01	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Rio Iguaçu (Araucária)	1,4 ± 0,1	0,15 ± 0,01	0,80 ± 0,02	0,17 ± 0,01	<LOQ
Rio Canguiri	4,0 ± 0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Rio Curralinho	3,0 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	0,53 ± 0,07	<LOQ
Rio Cercado	1,3 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	0,22 ± 0,03	<LOQ
RSD, %	3-11	7-8	3	6-15	-----

< LOQ: menor do que o limite de quantificação.

Os valores encontrados se apresentam com aceitável precisão. Entre as amostras analisadas, as do Rio Iguaçu (zoológico e Araucária) são, em princípio, as mais sujeitas a contaminações ambientais devido à localização, na área industrial de Curitiba. As amostras foram coletadas apenas pontualmente, sem um plano de amostragem prévio, já que a avaliação ambiental não faz parte dos objetivos do presente trabalho.

Este procedimento também foi aplicado nas amostras biológicas BCR-186, DOLT-2, TORT-2, 1566a e DORM-1, entretanto, os resultados apresentaram baixas

recuperações para o As e Se, com faixas de 8 a 30% e 36 a 63% respectivamente. Valores aceitáveis foram obtidos apenas para o Hg. Os elementos Sb e Sn apresentaram concentrações abaixo dos LOQ do método.

A determinação do As total é bastante crítica em amostras biológicas, pois este elemento está presente como um derivado organo-metálico, sendo as formas mais comuns a arsenobetaína, arsenocolina (Figura 28) e os arseno-açúcares, os quais são estáveis quimicamente, não gerando AsH_3 pela reação com o NaBH_4 . De acordo com a literatura, nestes casos, é necessária a digestão total das amostras para a posterior determinação deste analito.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Neste contexto, a amostragem em suspensão de amostras biológicas para a determinação do As não é aplicável, e portanto, novos estudos foram realizados para a determinação simultânea do Se e Hg, sendo discutida no item 4.3.

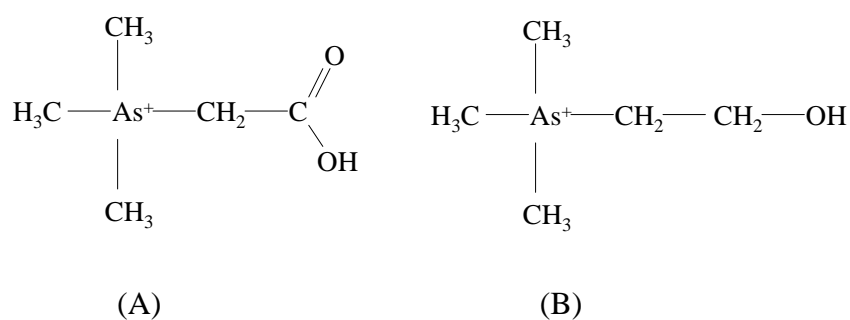


Figura 28. Formas mais comuns do As em amostras biológicas: arsenobetaína (A) e arsenocolina (B).¹⁰⁹

4.3. Determinação de Hg e Se em amostras biológicas

4.3.1. Otimização das condições instrumentais - análise fatorial

As condições instrumentais anteriormente otimizadas em 4.1.1, ou seja, potência RF e vazão do gás de arraste, foram mantidas. Assim as duas condições para a CVG, concentrações do HCl (4, 6 e 8 mol L⁻¹) e do NaBH₄ (1,0; 1,25 e 1,5% m/v) nos diferentes meios foram otimizadas pela análise fatorial através do software Statgraphics Plus 5.0, sendo utilizadas soluções padrão aquosas contendo 50 µg L⁻¹ de Hg(II) e de Se(IV) em: Água régia 10% v/v, HCl 6 mol L⁻¹, TMAH 0,25% m/v, TMAH 0,25% m/v + HCl 6 mol L⁻¹ e Triton X-100 0,1% v/v + HCl 6 mol L⁻¹. A matriz e a intensidade do sinal de emissão para cada experimento com os valores mínimos, máximos e ponto central estabelecidos para os 2 fatores estudados são mostrados na Tabela 15 (p. 63). O gráfico de Pareto para os efeitos principais e combinações é apresentado na Figura 29 (p. 64) sendo o valor mínimo de *t* igual a 12,8, a um nível de confiança de 95%, representado como uma linha vertical.

A análise fatorial demonstrou que a concentração do NaBH₄ é a que apresenta maior efeito significativo no procedimento analítico envolvendo a geração química de vapor do Hg e Se, de acordo com a Figura 29. A influência positiva é observada em todos os meios, sendo altamente significativa em água régia 10% v/v (para o Se), em HCl 6 mol L⁻¹ (para o Hg e Se), e em TMAH 0,25% m/v (para o Se). Desta maneira, a concentração máxima estudada de NaBH₄ foi adotada (1,5% m/v), já que maiores valores causam turbulências no separador de fases, devidas ao excesso de H₂ produzido, levando à instabilidade e extinção do plasma. O efeito da concentração do HCl foi positivo na maioria das situações, mas significativo apenas para o Se em TMAH 0,25% m/v. Como já é conhecido, o TMAH é uma base forte, solúvel em água, complexa e estabiliza vários elementos, incluindo Hg e Se, sendo bastante empregado no preparo de suspensões de amostras biológicas e alimentos, quando os analitos são determinados por sistemas convencionais de introdução de amostras.^{94,111} A concentração do HCl neste meio tem influência na redução do Se(VI) a Se(IV), que é a espécie que forma o hidreto volátil. Desta maneira, HCl 6 mol L⁻¹ foi a concentração adotada para a determinação simultânea do Hg e Se.

Tabela 15. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significantes na determinação de Hg e Se por CVG - ICP OES.

experimento	A	B	Intensidade, cps									
			Água-régia		HCl 6 mol L ⁻¹		TMAH 0,25%		TMAH 0,25% + HCl 6 mol L ⁻¹		Triton X-100 + HCl 6 mol L ⁻¹	
			Hg	Se	Hg	Se	Hg	Se	Hg	Se	Hg	Se
1	-	-	38198	4167	32634	3293	25196	3024	32055	3399	32243	3521
2	+	-	38810	5283	36051	3967	28269	3981	36319	4291	36398	4332
3	CP	CP	38223	4832	34188	3803	29035	3668	34985	4114	34609	4218
4	-	+	38911	4378	32673	3504	28097	3390	32581	3527	32320	3608
5	+	+	41100	5261	36024	4230	30839	4263	36193	4437	35950	4447

Fatores: A: NaBH₄ (% m/v); B: HCl (mol L⁻¹). Valores: mínimo (-); máximo (+); ponto central (CP). A: 1,0 % m/v (-), 1,50 % m/v (+), 1,25 % m/v (CP); B: 4 mol L⁻¹ (-), 8 mol L⁻¹ (+), 6 mol L⁻¹ (CP).

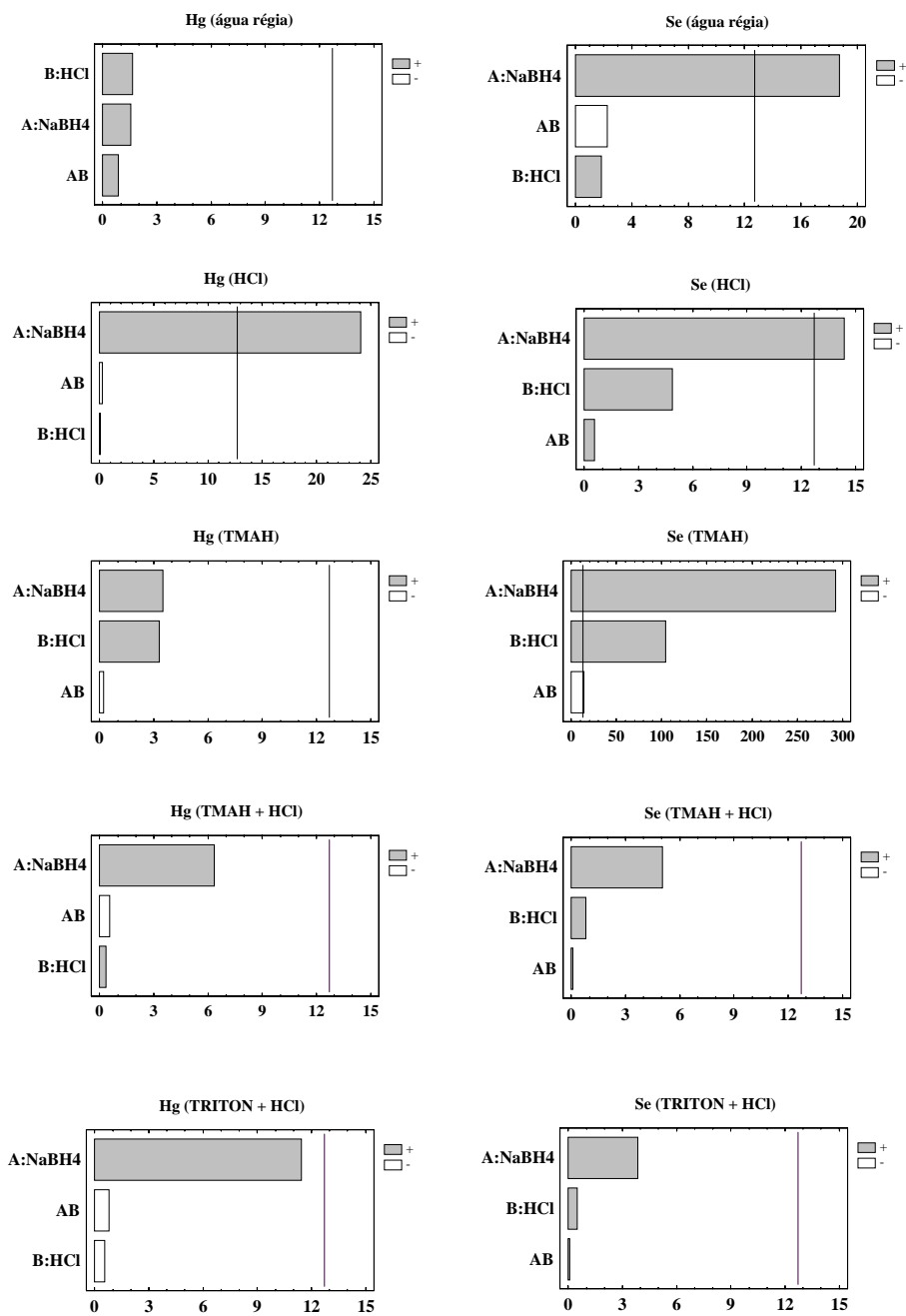


Figura 29. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH₄ (% m/v); B, concentração de HCl (mol L⁻¹).

4.3.2. Parâmetros de mérito

Curvas de calibração, no mesmo meio das suspensões, utilizando soluções padrão aquosas de Hg(II) e Se(IV) na faixa de 0,5 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas, empregando as condições selecionadas. Os parâmetros de mérito para Hg(II) e Se(IV) em água régia 10% v/v, HCl 6 mol L^{-1} , TMAH 0,25% m/v, TMAH 0,25% m/v + HCl 6 mol L^{-1} e Triton X-100 0,1% v/v + HCl 6 mol L^{-1} são mostrados na Tabela 16 (p. 66). Os coeficientes de correlação lineares foram $\geq 0,999$, com exceção do Se em TMAH 0,25% m/v, o qual foi 0,992. Os LOD e LOQ (previamente definidos no item 4.1.2, p. 46), foram obtidos considerando a massa da amostra de 30 mg no volume final de 15 mL. Os valores dos LOD apresentaram-se na faixa de 0,04 a 0,07 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o Hg e 0,07 a 0,27 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o Se. Sensibilidades similares foram obtidas para os dois analitos em água régia (Procedimento 1) e em HCl (Procedimentos 2, 4, e 5) e menores sensibilidades no Procedimento 3 (com TMAH). Os LOQ em $\mu\text{g g}^{-1}$: 0,15 (Hg) e 0,21 (Se), foram adequados para as análises das amostras certificadas biológicas e reais de ostras empregando o Procedimento 5 de preparação das suspensões.

Tabela 16. Parâmetros de mérito para os cinco meios diferentes das suspensões. As curvas de calibração foram obtidas para o Hg(II) e Se(IV) na faixa de concentração de 0,5-10 $\mu\text{g L}^{-1}$. LOD para 3 s e n = 10.

Analitos	Parâmetros	água régia 10% v/v (proced. 1)	HCl 6 mol L ⁻¹ (proced. 2, 4 e 5)	TMAH 0,25% m/v (proced. 3)	TMAH 0,25% m/v + HCl 6 mol L ⁻¹ (proced. 6)	Triton X-100 0,1% v/v + HCl 6 mol L ⁻¹ (proced. 7)
Hg	coef. correlação	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
	inclinação, (s $\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	632	636	379	551	607
	LOD ^a , $\mu\text{g g}^{-1}$	0,04	0,05	0,07	0,07	0,07
Se	coef. correlação	0,999	0,999	0,992	0,999	0,999
	inclinação, (s $\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	72	79	40	51	62
	LOD ^a , $\mu\text{g g}^{-1}$	0,08	0,07	0,27	0,20	0,13

^aLOD para 30 mg da amostra sólida em um volume final de 15 mL de suspensão.

4.3.3. Aplicação analítica

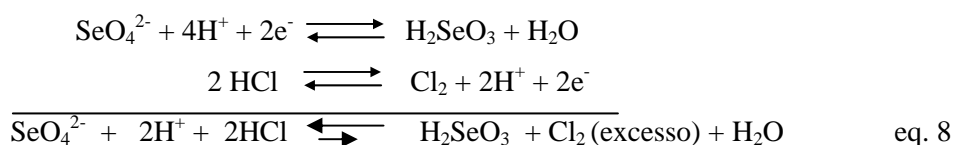
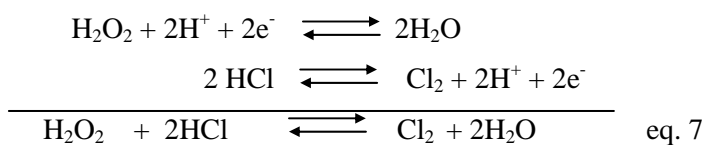
Os sete procedimentos foram inicialmente aplicados para a amostra de referência certificada TORT-2 e os resultados estão apresentados na Tabela 17 (p. 69).

Bons resultados foram obtidos para o Hg, com recuperações entre 89 a 111%. Este analito e/ou seus compostos apresentam elevada mobilidade para a fase aquosa da suspensão com eficiente formação do vapor atômico após a interação com o NaBH₄. Aplicando o teste *t* para um nível de confiança de 95%, os valores foram concordantes com os certificados. No caso do Procedimento 1, a ação favorável da água régia já foi previamente comprovada no item 4.1.

Entretanto, em relação ao Se, com exceção dos Procedimentos 4 e 5, os demais apresentaram baixos valores de recuperação. A técnica da adição do analito foi empregada ao Procedimento 1 (com água régia), obtendo-se $2,50 \pm 0,35 \mu\text{g g}^{-1}$ de Se, apresentando também recuperação baixa, quando comparada com o valor certificado de $5,63 \pm 0,67 \mu\text{g g}^{-1}$. Em amostras biológicas, o Se está presente principalmente como aminoácidos e/ou outras espécies orgânicas, e em menor concentração como SeO₃²⁻ (selenito) ou SeO₄²⁻ (selenato).^{81,112} Entretanto, apenas o Se(IV) forma o hidreto SeH₂, possibilitando a sua detecção por CVG - ICP OES. Os Procedimentos 2 e 3, que não empregam agentes oxidantes, apresentaram as menores recuperações, ao contrário dos demais. Entretanto, água régia e ozônio, não foram capazes de romper totalmente as ligações do Se nos compostos orgânicos, antes da redução ao Se(IV). Mas, bons resultados foram obtidos através dos Procedimentos 4 e 5, os quais empregaram agentes oxidantes mais fortes, H₂O₂ e K₂S₂O₈ respectivamente com um maior tempo de ação do ultra-som (60 min), seguido do tratamento com HCl sob aquecimento a 90°C, o qual reduziu o Se(VI) a Se(IV), que pela reação com o NaBH₄ formou o SeH₂.^{95,96,113,114}

Em um estudo realizado por KRIVAN et al.⁹⁸, foi descrito que o H₂O₂ contribui para a formação em excesso do cloro residual (Cl₂), durante a etapa de redução do Se(VI) a Se(IV) com o HCl (equação 7). Este excesso de Cl₂ desloca o equilíbrio da reação, representada na equação 8, para a esquerda, ou seja, promove a

oxidação do Se(IV) a Se(VI), mas de acordo com os autores, apenas na temperatura ambiente e após um período mínimo de 30 min.



Desta maneira, no caso da avaliação do Procedimento 4, que emprega o reagente H_2O_2 , as determinações do Se foram todas realizadas logo após o processo de redução com HCl, em intervalos menores que 30 min.

Os resultados apresentados na Tabela 17 (p. 69), mostram a boa concordância entre o valor certificado e o obtido com o agente oxidante $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Como o manuseio deste reagente é mais fácil, além de mais seguro do que o H_2O_2 , o Procedimento 5 foi adotado para a determinação simultânea do Hg e Se por CVG-ICP OES.

A tentativa de utilização do TMAH (Procedimento 6) ou Triton X-100 (Procedimento 7), com o processo de ozonização para oxidar os compostos orgânicos do Se, apresentou recuperações de somente 52% para ambos os procedimentos, não sendo, portanto adequados para os fins analíticos propostos.

Tabela 17. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se na amostra de referência certificada TORT-2, através dos sete procedimentos de preparação das suspensões, n=3.

Analito	Procedimentos						
	(1) água régia 10% v/v	(2) HCl 6 mol L ⁻¹	(3) TMAH 0,25% m/v	(4) H ₂ O ₂ + HCl 6 mol L ⁻¹	(5) K ₂ S ₂ O ₈ + HCl 6 mol L ⁻¹	(6) TMAH + O ₃ + HCl 6 mol L ⁻¹	(7) Triton X-100 + O ₃ + HCl 6 mol L ⁻¹
Hg (Certificado 0,27 ± 0,06)	0,28 ± 0,02	0,25 ± 0,05	0,24 ± 0,06	0,28 ± 0,03	0,27 ± 0,05	0,28 ± 0,05	0,30 ± 0,08
RSD%	7	20	25	0,1	19	18	27
Recup.%	104	93	89	104	100	104	111
Se (Certificado 5,63 ± 0,67)	2,62 ± 0,21	1,50 ± 0,12	1,00 ± 0,11	5,30 ± 0,52	5,70 ± 0,40	2,93 ± 0,40	2,90 ± 0,45
RSD, %	8	8	11	10	7	14	16
Recup.%	47	27	18	94	101	52	52

Este procedimento foi então aplicado em cinco amostras biológicas de referência certificadas, sendo os resultados apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se em amostras biológicas de referência certificadas, através do Procedimento 5 de preparação das suspensões, $n=3$.

Amostras		Hg	Se
BCR – 186	Encontrado	$1,83 \pm 0,06$	$9,73 \pm 0,42$
	Certificado	$1,97 \pm 0,04$	$10,30 \pm 0,5$
DOLT-2	Encontrado	$2,20 \pm 0,14$	$6,91 \pm 0,35$
	Certificado	$2,14 \pm 0,28$	$6,06 \pm 0,49$
TORT-2	Encontrado	$0,27 \pm 0,05$	$5,70 \pm 0,40$
	Certificado	$0,27 \pm 0,06$	$5,63 \pm 0,67$
1566 a	Encontrado	$0,07 \pm 0,01$	$2,18 \pm 0,40$
	Certificado	$0,0642 \pm 0,0067$	$2,21 \pm 0,24$
DORM –1	Encontrado	$0,81 \pm 0,030$	$1,56 \pm 0,15$
	Certificado	$0,798 \pm 0,0740$	$1,62 \pm 0,12$
	RSD, %	3-19	5 – 18
	Recuperação, %	93-109	95-114

Os resultados obtidos estão de acordo com os valores certificados, para um nível de confiança de 95%, segundo o teste *t*. As recuperações dos valores certificados apresentaram-se com faixas aceitáveis, bem como os desvios padrão relativos, demonstrando adequada precisão e exatidão do método proposto.

Novas suspensões foram preparadas para as cinco amostras biológicas de referência certificadas, mas filtradas em sistema a vácuo em membranas (previamente pesadas) de acetato de celulose de $0,45 \mu\text{m}$. As membranas, contendo as partículas insolúveis, foram secas a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h, e novamente pesadas. A diferença forneceu resultados na faixa de 3,9 a 6,9 mg e, em relação à massa original pesada (≈ 20 a 30 mg) de cada amostra, ficou demonstrado que uma total digestão não é obtida, entretanto, mais de 65% da amostra é dissolvida durante o processo de preparação da suspensão, empregando o Procedimento 5. Certamente, esta parcial dissolução contribuí para a homogeneização da suspensão. Os filtrados também foram analisados e os resultados, estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Hg e Se nos filtrados das amostras de referência certificadas, através do Procedimento 5 de preparação das suspensões, $n=3$.

Amostras		Hg	Se
BCR – 186	Encontrado	$1,87 \pm 0,05$	$5,28 \pm 0,51$
	Certificado	$1,97 \pm 0,04$	$10,30 \pm 0,5$
DOLT-2	Encontrado	$2,10 \pm 0,10$	$0,99 \pm 0,10$
	Certificado	$2,14 \pm 0,28$	$6,06 \pm 0,49$
TORT-2	Encontrado	$0,28 \pm 0,04$	< LOQ
	Certificado	$0,27 \pm 0,06$	$5,63 \pm 0,67$
1566 a	Encontrado	$0,07 \pm 0,01$	< LOQ
	Certificado	$0,0642 \pm 0,0067$	$2,21 \pm 0,24$
DORM –1	Encontrado	$0,75 \pm 0,01$	$1,54 \pm 0,15$
	Certificado	$0,798 \pm 0,0740$	$1,62 \pm 0,12$
	RSD, %	1-14	10 – 12
	Recuperação, %	94-109	0-95

< LOQ: menor que o limite de quantificação.

Como esperado, ocorre uma total extração do Hg para a fase líquida, contudo para o Se, com exceção da amostra DORM-1, baixa eficiência de extração foi obtida, significando que este analito permanece adsorvido nas partículas da suspensão. Amostras de ostras coletadas na Ilha de Santa Catarina-SC foram analisadas e os resultados estão apresentados na Tabela 20. O método proposto foi comparado com o de digestão total (item 3.4.2, p. 37). O Hg apresentou valores abaixo do LOQ.

Tabela 20. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Se nas amostras reais de ostras, $n=3$.

Amostras	Digestão total, Se	Procedimento 5, Se
Sambaquí 1	$1,38 \pm 0,08$	$1,25 \pm 0,14$
Sambaquí 2	$1,66 \pm 0,09$	$1,55 \pm 0,13$
Sambaquí 3	$1,31 \pm 0,07$	$1,45 \pm 0,16$
Santo Antônio 1	$1,87 \pm 0,07$	$1,70 \pm 0,18$
Santo Antônio 2	$1,71 \pm 0,05$	$1,92 \pm 0,26$
Santo Antônio 3	$1,96 \pm 0,05$	$1,82 \pm 0,28$
RSD, %	3-6	9-15

De acordo com o teste t emparelhado^{97,101}, para um nível de confiança de 95%, os resultados obtidos por ambos os métodos são concordantes, comprovando

portanto a exatidão do Procedimento 5 proposto. As concentrações de Se presentes nas amostras de ostras estão próximos aos valores obtidos em um estudo realizado no período de 1999 a 2000, com amostras coletas em toda Ilha de Santa Catarina-SC.¹¹⁵ Como esperado, os desvios padrão relativos foram maiores para os resultados da amostragem em suspensão em comparação com os do método da digestão total, contudo os valores indicam uma precisão aceitável.

4.4. Determinação de Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos

4.4.1. Otimização das condições instrumentais - análise fatorial

Em comparação com outros elementos formadores de hidretos, o Pb forma um composto instável, plumbano (PbH_4), o qual se decompõe muito rapidamente, dificultando a determinação deste elemento por CVG-ICP OES. Assim, é necessária a presença simultânea de um forte agente oxidante e de um agente complexante do metaestável Pb(IV), antes da redução a PbH_4 pela ação do NaBH_4 .¹¹⁶⁻¹¹⁹

Recentemente, MARRERO et al.¹¹⁷ investigaram o efeito de 4 misturas oxidantes na determinação de Pb em alimentos e bebidas em um sistema de fluxo contínuo acoplado a um ICP OES, sendo escolhido como o mais adequado o que empregava $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 4% m/v (agente oxidante), ácido tartárico 0,07 mol L^{-1} [agente complexante do Pb(IV)] e NaBH_4 2,5% m/v (atuando como o agente redutor para a formação do PbH_4). Já no presente trabalho, foi demonstrada a eficiência de agentes oxidantes, entre os quais a água régia e HNO_3 , empregados na extração dos analitos para a fase líquida nas determinações envolvendo amostragem por suspensões.

Desta maneira, com o objetivo de se estabelecer as condições ótimas para a formação do PbH_4 , foram otimizadas através da análise fatorial, as concentrações: (a) NaBH_4 (1,5; 2,0 e 2,5% m/v); (b) ácido tartárico (0,5; 1,0 e 1,5% m/v); e (c) $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (5,0; 7,5 e 10,0% m/v) em água desionizada, em HNO_3 2% v/v e em água régia 2% v/v, utilizando ambas: soluções padrão contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) e suspensões da amostra de referência certificada SRM 2702 (20 mg em 50 mL) contendo aproximadamente 53 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb.

As condições instrumentais anteriormente otimizadas em 4.1.1, ou seja, potência RF e vazão do gás de arraste, foram mantidas. Para o caso da geração do PbH_4 , as condições utilizadas por MARRERO et al.¹¹⁷ em relação às vazões dos reagentes e amostra foram adotadas (Tabela 2, p. 29). A matriz com as intensidades dos sinais de emissão para cada experimento com os valores mínimos, máximos e ponto central estabelecidos para os três fatores estudados são apresentados na Tabela 21 (p. 74). O gráfico de Pareto para os efeitos principais e combinações é

apresentado na Figura 30 (p.75), sendo o valor mínimo de t igual a 3,2, a um nível de confiança de 95%, representado como uma linha vertical .

Tabela 21. Matriz da análise fatorial para identificação das variáveis significativas na determinação de Pb por CVG - ICP OES.

experi- mento	A B C			Intensidade, cps					
				(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈		(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ em		(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	
				em água desionizada		HNO ₃ 2% v/v		em água régia 2% v/v	
				solução padrão	suspensão SRM 2702	solução padrão	suspensão SRM 2702	Solução padrão	suspensão SRM 2702
1	CP	CP	CP	1516	341	4211	1635	3600	3448
2	-	-	-	357	50	1638	1016	2626	2178
3	+	-	-	538	45	3683	2174	3000	2744
4	-	+	-	1658	137	184	135	330	450
5	+	+	-	2172	198	3677	1997	3189	2652
6	-	-	+	655	204	3790	1018	3214	2819
7	+	-	+	1071	434	5627	3998	5771	5877
8	-	+	+	2730	491	197	182	1212	1803
9	+	+	+	3788	847	5530	2439	4785	4659
10	CP	CP	CP	1525	350	4195	1680	3621	3462

Fatores: A: NaBH₄ (% m/v); B: ácido tartárico (% m/v); C: (NH₄)₂S₂O₈ (% m/v). Valores: mínimo (-); máximo (+); ponto central (CP). A: 1,5 % m/v (-), 2,5 % m/v (+), 2,0 % m/v (CP); B: 0,5 % m/v (-), 1,5 % m/v (+), 1,0 % m/v (CP); C: 5,0 % m/v (-), 10,0 % m/v (+), 7,5 % m/v (CP).

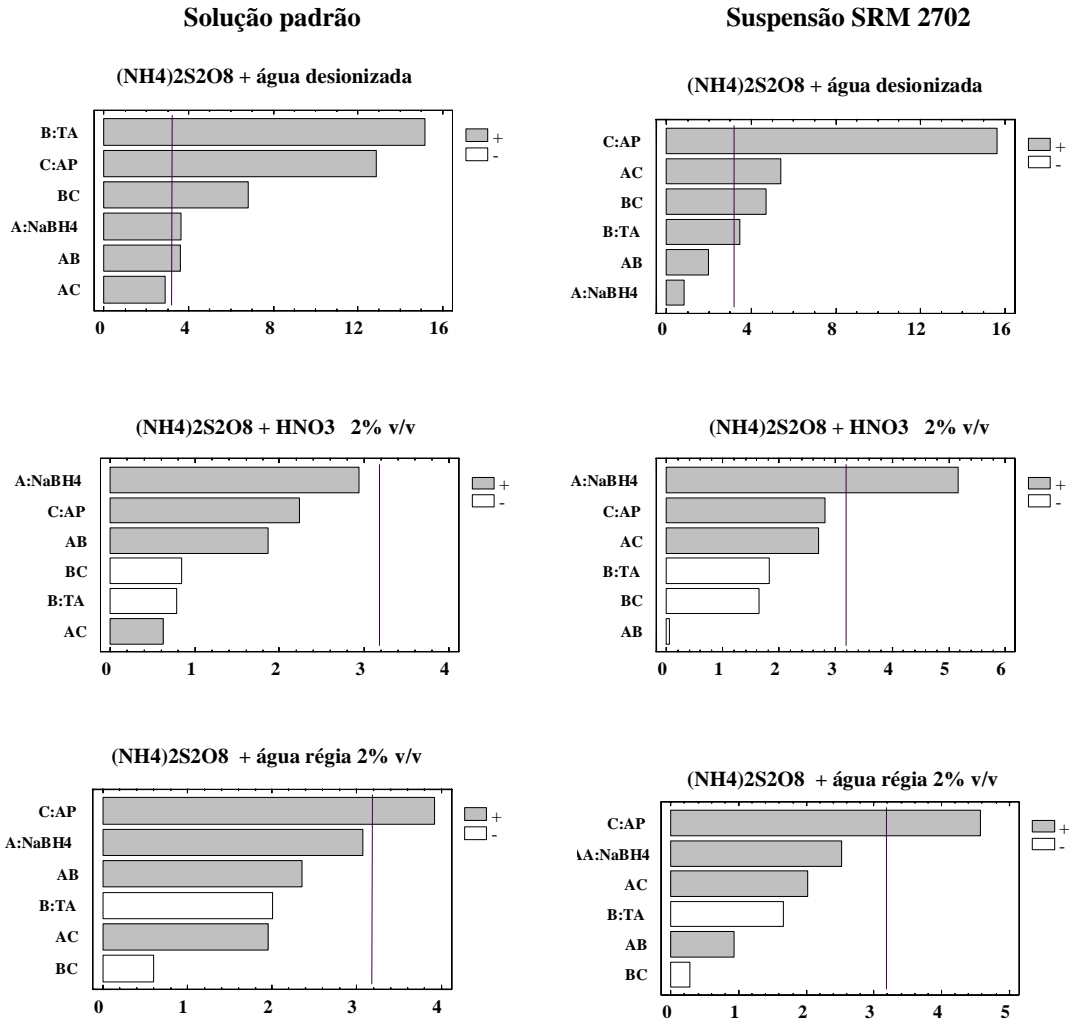


Figura 30. Gráficos de Pareto com os seguintes fatores: A, concentração de NaBH₄ (% m/v); B, concentração de ácido tartárico (% m/v) e C, concentração de (NH₄)₂S₂O₈.

A suspensão e também a solução padrão preparadas com $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ apenas em água desionizada, produziram elevada turbulência devido a grande quantidade de gás H_2 produzido, resultando na extinção do plasma algumas vezes e dificultando o trabalho analítico. Os resultados obtidos, de acordo com a Figura 30, demonstraram as influências significativas e positivas de maior intensidade do $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ e do ácido tartárico na solução padrão e do $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ na suspensão. Ficaram evidentes as diferenças de comportamento do analito nos dois meios (solução padrão e suspensão) além da instabilidade apresentada pelo plasma, sendo, portanto, descartada a possibilidade de trabalho nestas condições.

A mistura $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ e HNO_3 2% v/v resultou em um sistema um pouco mais estável que o anterior, principalmente para a solução padrão, que não apresentou influência significativa dos reagentes. Entretanto, a influência da concentração do NaBH_4 foi positiva e significativa na geração do plumbano para o caso da suspensão.

Por outro lado, verificou-se que o comportamento do analito foi similar na solução padrão e suspensão na mistura oxidante contendo $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ e água régia, sendo o sistema mais estável, tanto para a solução padrão, quanto para a suspensão, apresentando como influência positiva e significativa a concentração do $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. O NaBH_4 apresentou também influência positiva, mas não significativa, e o ácido tartárico, influência negativa, mas não significativa para a geração do plumbano. Foi interessante a constatação que ao substituir o ácido tartárico por água desionizada, o sinal analítico do Pb foi muito baixo, comprovando a importância deste reagente no sistema, certamente atuando como agente complexante da espécie metaestável Pb(IV) .¹¹⁶⁻¹¹⁹

Desta forma, com o objetivo de obter o máximo de sensibilidade e estabilidade adequadas para o analito, adotou-se o sistema contendo $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v com água régia 2% v/v; NaBH_4 2,5% m/v e a concentração mínima de ácido tartárico, ou seja, 0,5% m/v.

4.4.2. Efeito da concentração da água régia na formação do PbH_4

Como a água régia auxilia na eficiente extração dos analitos para a fase líquida, o efeito da concentração deste reagente na geração do PbH_4 foi investigado separadamente, mantendo as concentrações dos outros reagentes constantes, sendo apresentado na Figura 31.

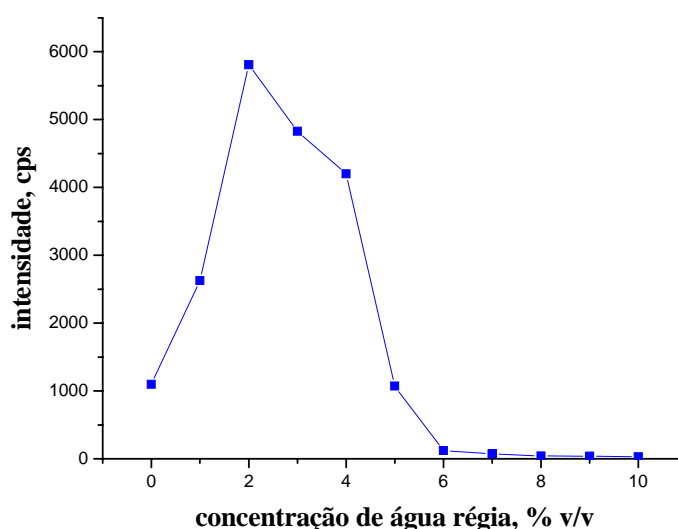


Figura 31. Avaliação da influência da concentração da água régia na geração do PbH_4 em soluções contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v.

A intensidade do sinal foi máxima em 2% v/v de água régia, diminuindo substancialmente para altas e baixas concentrações deste reagente, comprovando-se o resultado obtido através da análise fatorial anteriormente apresentada.

4.4.3. Investigação da geração química de vapor de outros analitos para determinação simultânea e parâmetros de mérito

Curvas de calibração, em $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v com água régia 2% v/v, utilizando soluções padrão aquosas multielementares nas faixas de concentração: $0,5$ a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II) , 5 a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sn(IV) e 10 a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) , Pb(II) e Sb(III) , foram preparadas, empregando as condições selecionadas. Os parâmetros de mérito estão mostrados na Tabela 22 (p. 78). Inicialmente foi incluído também o Se(IV) , mas, como era de se esperar, não houve sinal analítico do hidreto deste elemento, pois nestas condições todo o Se está na forma oxidada, ou seja Se(VI) , não gerando o composto volátil SeH_2 .

Tabela 22. Parâmetros de mérito para As, Hg, Sb, Pb e Sn. As curvas de calibração foram preparadas no mesmo meio das suspensões para Hg(II) (0,5 a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$), Sn(IV) (5 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) e As(III), Sb(III) e Pb(II) (10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). LOD para 3 s e n = 10.

Parâmetro	Analitos				
	As	Hg	Sb	Pb	Sn
coef. correlação	0,995	0,999	0,997	0,999	0,999
inclinação, (s $\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	3	190	10	76	79
LOD ^a , $\mu\text{g g}^{-1}$	27	0,4	13	3,0	0,7

^aLOD para 30 mg da amostra sólida em um volume de 50 mL de suspensão.

Os LOD e LOQ (previamente definidos no item 4.1.2, p. 46) foram obtidos considerando a massa da amostra de 30 mg no volume final de 50 mL. Os coeficientes de correlação lineares obtidos foram em torno de 0,999 para todos os analitos. Por causa das condições fortemente oxidantes do meio, a eficiência de formação dos hidretos de As e Sb e do Hg atômico foi prejudicada e conseqüentemente os LOD, em função da massa/volume das amostras, foram relativamente altos quando comparados com os valores constantes nas Tabelas 7, 10 e 16 (p. 47, 55 e 66 respectivamente). Por outro lado, estas condições favoreceram a formação do SnH_4 , resultando em uma boa sensibilidade, sendo possível a determinação simultânea do Sn e Pb com LOQ de 2,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 9,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, os quais foram adequados para as análises das amostras certificadas e reais de sedimentos.

4.4.4. Avaliação de íons interferentes na geração do PbH_4

O efeito de elementos que normalmente estão presentes em amostras de sedimentos, como o Cu, Mn e Zn (em nível de mg kg^{-1}) e Al, Fe, K e Si (em nível de % m/m), foi avaliado. Prepararam-se soluções padrão contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb (II) em $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10,0% m/v e água régia 2% v/v com crescentes concentrações destes elementos. As Figuras 32 e 33 (p.79) apresentam as influências dos íons presentes em concentrações em nível de mg kg^{-1} (Cu, Mn e Zn) e em nível de % (m/m) (Al, Fe, K e Si) em amostras de sedimentos.

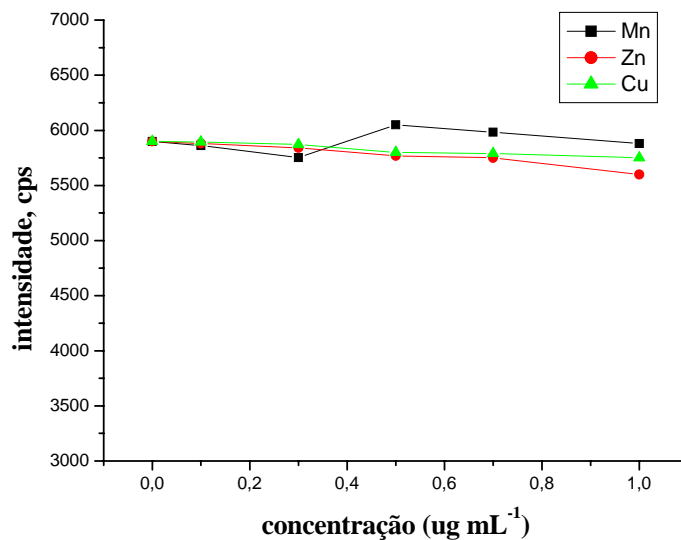


Figura 32. Avaliação da influência da concentração dos elementos Cu, Mn e Zn na geração do plumbano em soluções contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb (II) em $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v e água régia 2% v/v.

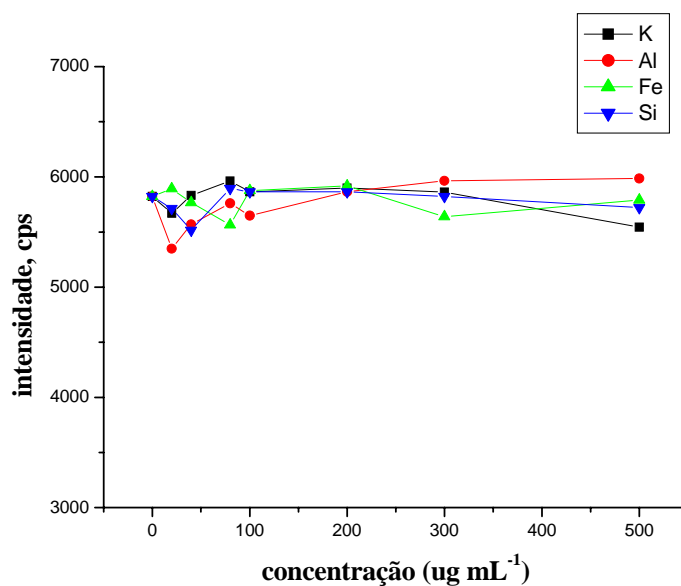


Figura 33. Avaliação da influência da concentração dos elementos Al, Fe, K e Si na geração do plumbano em soluções contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb (II) em $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 10% m/v e água régia 2% v/v.

Nas faixas de concentrações avaliadas, os íons presentes não foram capazes de influenciar significativamente a eficiência da geração do plumbano.

4.4.5. Aplicação analítica

O procedimento foi aplicado na determinação de Pb e Sn em seis amostras de referência certificadas. As suspensões também foram filtradas através de uma membrana de acetato de celulose de 0,45 μm em sistema de filtração a vácuo. As suspensões e os filtrados foram analisadas separadamente, utilizando a mesma curva de calibração e os resultados são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Pb e Sn nas suspensões e filtrados, n=3.

Amostra	Analito	Certificado	Filtrado	Suspensão
SRM 2702	Pb	132,8 \pm 1,1	107,4 \pm 3,1	134,3 \pm 2,5
	Sn	31,6 \pm 2,4	30,5 \pm 0,7	29,6 \pm 1,7
HISS-1	Pb	3,13 \pm 0,40	2,8 \pm 0,4	3,4 \pm 0,3
	Sn	(0,11)*	0,13 \pm 0,02	0,13 \pm 0,02
PACS-2	Pb	183 \pm 8	135 \pm 6	180 \pm 5
	Sn	19,8 \pm 2,5	19,1 \pm 1,6	19,1 \pm 1,0
RS-3	Pb	129,0 \pm 1,7	107,6 \pm 2,5	130,9 \pm 2,7
	Sn	13,00 \pm 0,70	12,7 \pm 0,5	12,5 \pm 0,7
CRM 144R	Pb	106 \pm 4	77 \pm 4	97 \pm 5
	Sn	**	11,8 \pm 0,5	11,5 \pm 0,5
CRM 146R	Pb	609 \pm 14	389 \pm 11	601 \pm 16
	Sn	**	52 \pm 1	50 \pm 3
Pb	RSD, (%)		2 – 14	2-8
	Recuperação (%)		65-82	92-109
Sn	RSD, (%)		2-15	5-15
	Recuperação (%)		97-118	94-118

* valor informado

**não certificado

Bons resultados foram obtidos para o Sn, nos filtrados e suspensões, os quais não apresentaram diferenças significativas com os valores certificados a um nível de 95% de confiança, indicando que ocorre extração total deste analito para a fase líquida. Os resultados do Pb se apresentaram com valores baixos no filtrado (recuperação na faixa de 65 a 82%), mas nas suspensões as recuperações foram aceitáveis (92 a 109%) não apresentando diferenças significativas com os valores certificados a um nível de 95% de confiança, de acordo com o teste *t*. Ficou evidente que parte do Pb permanece adsorvido nas partículas da suspensão.

Amostras de sedimentos coletadas em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, também foram analisadas através do procedimento proposto e os resultados comparados com o método de digestão ácida total de acordo com o item 3.4.1 (p. 36) usando-se o sistema de nebulização convencional do ICP OES. Os valores são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de Pb e Sn nas amostras de sedimentos, coletados em pontos diferentes na bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, em Curitiba-PR, na suspensão e digestão ácida total, n=3.

Amostras	Suspensão		Digestão total	
	Pb	Sn	Pb	Sn
Reservatório Irai	29,9 ± 3,2	3,6 ± 0,3	28,3 ± 0,9	< LOQ
Rio Iraí (Pinhais - a)	32,4 ± 3,2	3,1 ± 0,1	34,8 ± 0,1	< LOQ
Rio Iraí (Pinhais - b)	30,0 ± 3,4	2,8 ± 0,3	28,8 ± 0,7	< LOQ
Rio Timbú	20,7 ± 1,9	3,0 ± 0,1	18,4 ± 0,5	< LOQ
Rio Iguaçu (zoológico)	53,3 ± 1,2	7,5 ± 0,1	50,9 ± 0,6	7,7 ± 0,6
Rio Iguaçu (Araucária)	29,5 ± 0,8	4,2 ± 0,2	28,6 ± 0,2	< LOQ
Rio Canguiri	22,6 ± 0,9	3,3 ± 0,1	21,5 ± 0,4	< LOQ
Rio Currealinho	27,8 ± 0,8	4,9 ± 0,1	26,8 ± 0,3	< LOQ
Rio Cercado	18,9 ± 2,0	3,1 ± 0,2	19,8 ± 0,2	< LOQ
RSD, %	2 - 11	1 - 11	0,3 - 3	2 - 8

< LOQ: menor do que o limite de quantificação do Sn no sistema convencional: $5 \mu\text{g g}^{-1}$.

Aplicando o teste *t* emparelhado aos resultados obtidos pelos dois métodos, verificou-se que não apresentaram diferenças significativas a um nível de 95% de confiança, indicando que o método proposto fornece exatidão e precisão aceitáveis.^{97,101} Uma vantagem observada, é que o método da amostragem em suspensão com CVG-ICP OES apresentou uma maior sensibilidade do que o método do sistema convencional, que inclui a digestão ácida total.

4.5. Comparação dos quatro procedimentos recomendados

A Tabela 25 apresenta de forma resumida, os parâmetros de mérito dos quatro procedimentos recomendados: **(1)** Determinação de Hg em amostras biológicas, sedimentos e lodos; **(2)** Determinação de As, Hg, Sb, Se e Sn em amostras de sedimentos; **(3)** Determinação de Hg e Se em amostras biológicas e **(4)** Determinação de Pb e Sn em amostras de sedimentos e lodos.

Tabela 25. Parâmetros de mérito dos procedimentos recomendados.

Parâmetros	Procedimento 3 (p. 33 – item 3.3.1) (água régia) (1)	Procedimento 3 (p. 33 - item 3.3.2) (água régia + Ge) (2)	Procedimento 5 (p. 35 – item 3.3.3) (K ₂ S ₂ O ₈ + HCl) (3)	Procedimento: água régia + (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (p. 36 – item 3.3.4) (4)
Matriz	Biológicas, sedimentos e lodos	Sedimentos	Biológicas	Sedimentos e lodos
Analitos e faixa de trabalho (µg L ⁻¹)	Hg: 0,5 a 10	Hg, Sb, Se: 0,5 a 10 As, Sn: 10 a 100	Hg, Se: 0,5 a 10	Pb 10 a 100 Sn 5 a 100
Linearidade			≥ 0,999	
Inclinação (s µg L ⁻¹) ⁻¹	Hg: 585	As: 54 Hg: 632 Sb: 59 Se: 72 Sn: 3	Hg: 636 Se: 79	Pb 76 Sn 79
LOD, µg g ⁻¹ , 30 mg/15 mL e *30 mg/50 mL	Hg: 0,04	As: 0,25 Hg: 0,04 Sb: 0,13 Se: 0,04 Sn: 4	Hg: 0,05 Se: 0,07	Pb 3,0* Sn 0,7*

Os quatro procedimentos recomendados permitem utilizar soluções padrão aquosas no mesmo meio das suspensões, com calibração externa, sendo obtida ótima linearidade para todos os analitos. O emprego do padrão interno foi necessário apenas para o caso da determinação do As e Se em sedimentos. O Hg apresentou a maior sensibilidade, entre todos os elementos pesquisados, com LOD e sensibilidades similares nos três métodos possíveis para a sua determinação. O Se também apresentou LOD similares para amostras de sedimentos e de origem biológica, entretanto, no caso do Sn, o procedimento que permite a determinação simultânea com o Pb é o que possui menor LOD e maior sensibilidade.

5. CONCLUSÕES

A amostragem em suspensão provou ser um procedimento simples e rápido de preparo de amostras sólidas para a determinação de elementos formadores de hidretos voláteis e Hg através do acoplamento da CVG ao ICP OES, em comparação aos métodos tradicionais, os quais normalmente requerem o processo de mineralização envolvendo elevado tempo e grandes quantidades de reagentes. Em relação ao presente trabalho, podemos ainda afirmar:

- ◆ A CVG, em condições otimizadas, permite eficiente formação dos hidretos de As, Pb, Sb, Se e Sn e do Hg atômico, proporcionando maior seletividade, sensibilidade e reduzindo significativamente a presença de interferentes, normalmente presentes no sistema convencional da técnica ICP OES.
- ◆ Através da ferramenta estatística análise fatorial, é possível estabelecer as condições instrumentais ótimas e as concentrações mais adequadas dos reagentes (HCl, NaBH₄ e ácido tartárico) empregados no processo da CVG, de modo a garantir a estabilidade do plasma e boa sensibilidade para a determinação dos analitos nas amostras ambientais e biológicas.
- ◆ A ação conjunta do ultra-som e dos reagentes contribuiu para a extração parcial e/ou total dos analitos para a fase líquida das suspensões, melhorando as precisões das análises e também na diminuição final do tamanho das partículas sólidas das amostras de sedimentos e lodos. Por outro lado, para as amostras de origem biológica, foi observado que as partículas tendem a se aglomerar nas suspensões, entretanto, este efeito foi amenizado pela adição do agente antiespumante (polímero de silicone).

- ◆ É possível empregar a calibração externa, com soluções padrão aquosas preparadas no mesmo meio das suspensões, a todos os procedimentos propostos, obtendo-se limites de quantificação adequados dos analitos para as amostras analisadas. Entretanto, a determinação de As e Se em sedimentos, necessitam do Ge(IV) como padrão interno para garantir resultados exatos.

- ◆ A determinação do Se em amostras biológicas apresentou bons resultados com o emprego do $K_2S_2O_8$ e H_2O_2 , sendo escolhido, por razões práticas o $K_2S_2O_8$. Estes reagentes, com a ação do ultra-som oxidam eficientemente os compostos orgânicos do Se. Entretanto, se faz necessária a pré-redução do Se(VI) à Se(IV) com HCl 6 mol L⁻¹ a 90°C, sendo possível a determinação simultânea do Hg e Se em amostras biológicas, obtendo-se bons resultados.

- ◆ O uso do $(NH_4)_2S_2O_8$ foi eficiente na oxidação do Pb(II) a Pb(IV), o qual, complexado com ácido tartárico e seguido da reação com o NaBH₄, formou o PbH₄ possibilitando a determinação do analito com boa precisão e exatidão. Nestas condições, foi possível obter uma melhor sensibilidade também para o Sn, permitindo a determinação simultânea destes analitos em sedimentos e lodos.

Todos os procedimentos recomendados apresentaram-se simples, robustos, com precisão e exatidão aceitáveis. A técnica CVG-ICP OES com amostragem em suspensão, através das metodologias desenvolvidas neste trabalho, possivelmente pode ser aplicada à determinação dos analitos em diferentes matrizes, tais como alimentos, pigmentos e solos. Entretanto, os métodos analíticos devem ser empregados com bastante critério, já que o sucesso da análise está diretamente ligado ao procedimento de amostragem das amostras sólidas e do perfeito controle das etapas analíticas, principalmente daquelas que envolvem reações de transformação dos estados de oxidação dos analitos, de modo a garantir a formação das espécies voláteis.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 5, p. 708-716, 2003.
2. BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2 ed. Porto Alegre, Bookman, p. 552-564, 2002.
3. OLIVEIRA, E. **Espectrometria de Emissão Atômica (ICP-AES)**. Universidade de São Paulo, Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica (apostila), 1996.
4. BOSS, C. B.; FREDEEN, K.J. **Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry**. 2 ed. USA, Perkin Elmer Corporation, 1997.
5. GINÉ, M. F. **Análises Químicas por Espectrometria de Plasma com Detector de Massa**. São Paulo, XXXVI Congresso Brasileiro de Química, ABQ, apostila do curso 02, 1996.
6. THOMPSON, M.; WALSH, J. N. **Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry**. 2 ed. New York, Chapman and Hall, 1989. 316 p.
7. GREENFIELD, S.; JONES, I. L. I.; BERRY, C. T. High-Pressure Plasmas as Spectroscopic Emission Sources. **Analyst**, v. 89, p. 713-720, 1964.
8. WENDT, R. H.; FASSEL, V. A. Inductively-Coupled Plasma Spectrometric Excitation Source. **Anal. Chem.**, 37, p. 920-922, 1965.

9. ABDALLAH, M. H.; DIEMIASZONEK, R.; JAROSZ, J.; MERMET, J. M.; ROBIN, J. TRASSY, C. Etude Spectrometrique d'um plasma induit par haut frequence. **Anal. Chim. Acta**, v. 84, p. 271-282, 1976.
10. LICHTÉ, F. E.; KOIRTYOHANN, S. R. **Induction Coupled Plasma Emission from a different Angle**. Pap, 26, FACSS, Philadelphia, 1976.
11. DEMERS, D. R. Evaluation of the axially viewed (end-on) inductively coupled argon plasma source for atomic emission spectroscopy. **Appl. Spectrosc.**, v. 33, p. 584-591, 1979.
12. KORNBLUM, G. R. 2nd ICP Conf., Noordwijk aan Zee, Excitation mechanisms – physical data, excitation models, Report by DANIELSSON, A. **ICP Inf. Newsl.**, v. 4, p. 147-171, 1989.
13. FAIRES, L. M.; BIENIEWSKI, T. M.; APEL, C. T.; NIEMCZYK, T. M. 'Top-down' versus 'side-on' viewing of the inductively coupled plasma. **Appl. Spectrosc.**, v. 39, p. 5, 1985.
14. SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. **Spectrochim. Acta. Part B.**, v. 57, n. 12, p. 1905-1913, 2002.
15. NHAM, T. N. Fast Analysis of Water Samples Comparing Axially and Radially – Viewed CCD Simultaneous ICP-AES. **Varian ICP-AES at work**, Austrália, ICP-28, p. 1-6, 1999.
16. NOLTE, J. **ICP Emission Spectrometry: a practical guide**. Germany, Wiley-VCH, 2003. 266 p.

17. WALLACE, G. F. Some considerations on the selection of an internal standard for ICP emission spectrometry. **At. Spectrosc.**, v. 5, n. 1, p. 5-9, 1984.
18. IVALDI, J. C.; TYSON, J. F. Real-time internal standardization with an axially-viewed inductively coupled plasma for optical emission spectrometry. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 51, n. 12, p. 1443-1450, 1996.
19. GROTTI, M.; MAGI, E.; LEARDI, R. Selection of internal standards in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry by principal component analysis. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 18, p. 274-281, 2003.
20. SANTOS, E. J.; OLIVEIRA, E. Evaluation of arsenic and selenium in brazilian soluble coffee by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation. **Braz. Arch. Biol. Techn.**, v. 44, n. 3, p. 233-238, 2001.
21. SANTOS, Éder José dos. **Determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES)**. São Paulo, 1999. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP).
22. TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1132-1144, 2002.
23. POHL, P. Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry. **Trends Anal. Chem.**, v. 23, n. 2, p. 87-101, 2004.
24. GUTZEIT, H. Bemerkungen zur Revision der phamacopea germanica. **Pharmaz, Zeitung**, Berlin, n. 35, p. 263, 1879.

25. KINNIBURGH, D. G.; KOSMUS, W. Arsenic Contamination in Groundwater: Some Analytical Considerations. **Talanta**, v. 58, n. 1, p. 165-180, 2002.
26. FURMAN, N.H., ed. **Standard Methods of Chemical Analysis**. 6th ed., Vol. I, D. Van Nostrand Co., Princeton, N. J., p. 118-124, 1962.
27. HOLAK, W. Gas - Sampling Technique for Arsenic Determination by Atomic Absorption Spectrophotometry. **Anal. Chem.**, v. 41, n. 12, p. 1712-1713, 1969.
28. BRAMAN, R.S.; JUSTEN, L.L.; FOREBACK, C. C. Direct Volatilization-Spectral Emission Type Detection System for Nanogram Amounts of Arsenic and Antimony. **Anal. Chem.**, v. 44, n. 13, p. 2195-2199, 1972.
29. D'ULIVO, A.; ONOR, M.; PITZALIS, E. Role of hydroboron intermediates in the mechanism of chemical vapor generation in strongly acidic media. **Anal. Chem.**, v. 76, n. 21, p. 6342-6352, 2004.
30. D'ULIVO, A.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E. The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 60, p. 423-438, 2005.
31. BOLEA, E.; LABORDA, F.; CASTILLO, J. R.; STURGEON, R. E. Electrochemical hydride generation for the simultaneous determination of hydride forming elements by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 59, p. 505-513, 2004.
32. GUO, X.; STURGEON, R. E.; MESTER, Z.; GARDNER, G. J. UV vapor generation for the determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Anal. Chem.**, v. 75, n. 9, p. 2092-2099, 2003.

33. GUO, X.; STURGEON, R. E.; MESTER, Z.; GARDNER, G. J. UV photosynthesis of nickel carbonyl. **Appl. Organomet. Chem.**, v. 18, n. 5, p. 205-211, 2004.
34. THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B.; WALTON, S. J. Simultaneous determination of trace concentrations of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium in aqueous solution by introduction of the gaseous hydrides into an inductively coupled plasma source for emission spectrometry – Part I: Preliminary Studies. **Analyst**, v. 103, p. 568-579, 1978.
35. HYWEL, E. H.; DAY, J. A.; FISHER, A.; PRICE, W. J.; SMITH, C. M. M.; TYSON, J. F. Atomic spectrometry update, Advances in atomic emission, absorption and fluorescence spectrometry and related techniques. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 19, p. 775-812, 2004.
36. LAJUNEN, L. H. **Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission**. England, Ed. Royal Society of Chemistry, p. 117-125, 1992.
37. MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras. **Quím. Nova**, v. 21, n. 4, p. 459-466, 1998.
38. OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.
39. WELZ, B.; MELCHER, M. Decomposition of marine biological tissues for determination of arsenic, selenium, and mercury using hydride-generation and cold-vapor atomic absorption spectrometries. **Anal. Chem.**, v. 57, n. 2, 427-431, 1985.

40. LAFUENTE, J. M. G.; SÁNCHEZ, M. L. F.; MARCHANTE-GAYÓN, J. M.; URIA, J. E. S.; SANZ-MEDEL, A. On-line focused microwave digestion-hydride generation of inorganic and organic selenium: total determination and inorganic selenium speciation by atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 51, p.1849-1857, 1996.
41. RENARD, N. E.; TOMPKINS, T. A. Evaluation of methods for total selenium determination in yeast. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 88, n. 2, p.185-191, 2002.
42. ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 1 ed. New York, John Wiley & Sons, p. 50-51, 1993.
43. CAL-PRIETO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI, S.; PRADA, D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS), A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, v. 56, p. 1-51, 2002.
44. EBDON, L.; FOULKES, M.; SUTTON, K. Slurry nebulization in plasmas, Review. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 12, p. 213-229, 1997.
45. WANG, Z.; NI, Z.; QIU, D.; CHEN, T.; TAO, G.; YANG, P. Determination of metal impurities in titanium dioxide using slurry sample introduction by axial viewing inductively coupled plasma optical spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 19, p. 273-276, 2004.
46. SILVA, C. S.; NÓBREGA, J. A.; BLANCO, T. Análise de suspensões de argilas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido com configuração axial. **Quím. Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1194-1196, 2002.

47. SANCHEZ, F. M. L.; FAIRMAN, B.; SANZ-MEDEL, A. Direct analysis of slags by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using slurry sample introduction techniques. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 5, p. 397-401, 1991.
48. MANICKUM, C. K.; VERBEEK, A. A. Determination of aluminium, barium, magnesium and manganese in tea leaf by slurry nebulization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 9, p. 227-229, 1994.
49. MILLER-IHLI, N. J. Graphite furnace atomic absorption spectrometry for the analysis of biological materials. **Spectrochim. Acta part B**, v. 44, p. 1221-1227, 1989.
50. BENDICHO, C.; LOSS-VOLLEBRET, E. M. T. C. The influence of pyrolysis and matrix modifiers for analysis of glass materials by GF AAS using slurry introduction. **Spectrochim. Acta part B**, v. 45, p. 679-693, 1990.
51. EBDON, L.; COLLIER, A. R. Direct atomic spectrometric analysis by slurry atomisation, Part 5, Analysis of kaolin using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 3, p. 557-561, 1988.
52. BORGES, S. S., KORN, M. Geração Sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono. **Quím. Nova**, v. 25, n. 4, p.558-562, 2002.
53. ALVES, F. L.; JARDIM, W. F.; CADORE, S.; ARRUDA, M. A. Z.; SMICHOWSKI, P.; MARRERO, J. Emprego da amostragem de suspensão na determinação de Cu e Zn em lapa Antártica e Ni em sedimento de rio por espectrometria de absorção atômica com chama. **Quím. Nova**, v. 24, n. 6, p. 756-760, 2001.

54. HASWELL, S. J.; MENDHAM, J.; BUTLER, M. J.; SMITH, D.C. Determination of arsenic in solid samples by cold acid solubilisation-hydride generation atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 3, p. 731-734, 1988.
55. MATUSIEWICZ, H. Chemical vapor generation with slurry sampling: a review of atomic absorption applications. **Appl. Spectrosc. reviews**, v. 38, n. 3, p. 263-294, 2003.
56. MADRID, Y.; BONILLA, M.; CÁMARA, C. Determination of lead in foodstuffs and biological samples by hydride generation atomic spectrometry using an aqueous slurry technique. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 4, p. 167-169, 1989.
57. MADRID, Y.; BONILLA, M.; CÁMARA, C. Evaluation of oxidant media for the determination of lead in food slurries by hydride generation atomic spectrometry. **Analyst**, v. 115, p. 563-565, 1990.
58. MADRID, Y.; MESEGUER, J.; BONILLA, M.; CÁMARA, C. Lead hydride generation in a lactic acid-potassium dichromate medium and its application to the determination of lead in fish, vegetable and drink samples. **Anal. Chim. Acta.**, v. 237, p. 181-187, 1990.
59. GUNTIÑAS, M. B. C.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Determination of total available antimony in marine sediments by slurry formation-hydride generation atomic absorption spectrometry. Applicability to the selective determination of antimony(III) and antimony(V). **Analyst**, v. 116, p. 1029-1032, 1991.

60. GARCÍA, I. L.; MARTÍNEZ, M. J. V.; CÓRDOBA, M. H. Cold vapour atomic absorption method for the determination of mercury in iron(III) oxide and titanium oxide pigments using slurry sample introduction. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 6, p. 627-630, 1991.
61. GARCÍA, I. L.; PEÑALVER, I. N.; CÓRDOBA, M. H. Evaluation of the hydride generation technique for the determination of lead in commercial iron oxide pigments. **Mikrochim. Acta**, v. 109, p. 211-219, 1992.
62. NERÍN, C.; ZUFIAURRE, R.; CACHO, J. Determination of arsenic in fly ash by hydride generation in a slurry. **Mikrochim. Acta**, v. 108, p. 241-249, 1992.
63. GUNTIÑAS, M. B. C.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Speciation of antimony by atomic absorption spectrometry. Applicability to selective determination of Sb(III) and Sb(V) in liquid samples and bioavailable antimony in sediments and soil samples. **Mikrochim. Acta**, v. 109, p. 149-155, 1992.
64. GARCÍA, I. L.; CORTÉZ, J.; CÓRDOBA, M. H. Generation of vapors from slurried samples for the fast determination of As and Hg in coal fly and diatomaceous earth. **At. Spectrosc.**, v. 14, n. 5, p. 144-147, 1993.
65. CABRERA, C.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Determination of lead in wine, other beverages and fruit slurries by flow injection hydride generation atomic spectrometry with on-line microwave digestion. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 9, p. 1423-1426, 1994.
66. RONDÓN, C.; BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M.; BRUNETTO, M. R.; GALLIGNANI, M.; PETIT DE PEÑA, Y. Selective determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue by microwave-assisted mineralization and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Anal. Chem.**, v. 353, p. 133-136, 1995.

67. MIERZWA, J.; ADELOJU, S. B.; DHINDSA, H. S. Slurry sampling for hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic in cigarette tobaccos. **Analyst**, v. 122, p. 539-542, 1997.
68. MIERZWA, J.; DOBROWOLSKI, R. Slurry sampling hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of extractable/soluble As in sediments samples. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 53, p. 117-122, 1998.
69. RÍO-SEGADE, S.; BENDICHO, C. Slurry sampling combined with ultrasonic pretreatment for total mercury determination in samples containing inorganic and methylmercury by flow injection-cold vapor-atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 14, p. 1907-1912, 1999.
70. GURLEYUK, H.; TYSON, J. F.; UDEN, P. C. Determination of extractable arsenic in soils using slurry sampling-on-line microwave extraction-hydride generation-atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 55, p. 935-942, 2000.
71. LIVA, M.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C. Determination of Cd in sonicate slurries and leachates of biological and environmental materials by FI-CV-AAS. **Talanta**, v. 51, p. 381-387, 2000.
72. FLORES, E. M. M.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Determination of mercury in mineral coal using cold vapor generation directly from slurries, trapping in a graphite tube, and electrothermal atomization. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 56, p. 1605-1614, 2001.
73. MATUSIEWICZ, H.; MIKOLAJCZAK, M. Determination of As, Sb, Se, Sn, and Hg in beer and wort by direct hydride generation sample introduction-electrothermal AAS. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 16, p. 652-657, 2001.

74. MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Determination of As, Bi, and Se in acidified slurries of marine sediment, soil and coal samples by hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Anal. At. Spectrom.**, v. 17, p. 721-726, 2002.
75. MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Direct As, Bi, Ge, Hg and Se(IV) cold vapor/hydride generation from coal fly ash slurry samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 57, p. 883-895, 2002.
76. VIEIRA, M. A.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Determination of arsenic in sediments, coal and fly ash slurries after ultrasonic treatment by hydride generation atomic absorption spectrometry and trapping in an iridium-treated graphite tube. **Spectrochim. Acta. Part B**, v. 57, p. 2057-2067, 2002.
77. MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Tin determination in marine sediment, soil, coal fly ash and coal slurried samples by hydride generation-electrothermal atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 461, p. 261-271, 2002.
78. MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Direct mercury determination in aqueous slurries of environmental and biological samples by cold vapour generation-electrothermal atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 460, p. 111-122, 2002.

79. MATUSIEWICZ, H.; MROCZKOWSKA, M. Hydride generation from slurry samples after ultrasonication and ozonation for the direct determination of trace amounts of As(III) and total inorganic arsenic by their *in situ* trapping followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 18, p. 751-761, 2003.
80. SEGADE, S. R.; TYSON, J. F. Evaluation of two flow injection systems for mercury speciation analysis in fish tissue samples by slurry sampling cold vapor atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 18, p. 268-273, 2003.
81. MORENO, M. E.; PÉREZ-CONDE, C.; CÁMARA, C. The effect of the presence of volatile organoselenium compounds on the determination of inorganic selenium by hydride generation. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 375, p. 666-672, 2003.
82. RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; CURTIUS, A. J. Slurry sampling for Hg determination in sediments, sewage sludge and coal samples by cold vapor atomic absorption spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, n. 6, p. 825-834, 2004.
83. VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J. Slurry sampling of sediments and coals for the determination of Sn by HG-GF AAS with retention in the graphite tube treated with Th or W as permanent modifiers. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 380, p. 570-577, 2004.
84. CAL-PRIETO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M. Direct generation of stibine from slurries and its determination by ETAAS using multivariate optimization. **At. Spectrosc.**, v. 26, n. 3, p. 94-101, 2005.

85. CAVA-MONTESINOS, P.; CERVERA, M. L.; PASTOR, A.; GUARDIA, M. DE LA. Determination of As, Sb, Se, Te and Bi in milk by slurry sampling hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, v. 62, p. 175-184, 2004.
86. RÓDENAS-TORRALBA, E.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M. Multicommutation hydride generation atomic fluorescence determination of inorganic tellurium species in milk. **Food Chem.**, v. 91, p. 181-189, 2005.
87. RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; CURTIUS, A. J. Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 59, p. 243-253, 2004.
88. VIEIRA, M. A.; SAINT'PIERRE, T. D.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Determination of As, Hg, Se and Sn in sediment slurries by CVG-ETV-ICP-MS with trapping in an Ir treated graphite tube and calibration against aqueous standards. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 19, p. 297-300, 2004.
89. VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J. Determination of As, Ge, Hg, Pb, Sb, Se and Sn in coal slurries by CVG-ETV-ICP-MS using external or isotopic dilution calibration. **Microchem. J.**, v. 82, p. 127-136, 2006.
90. VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; DIAS, L. F.; CURTIUS, A. J. Determination of Cd, Hg, Pb and Se in sediments slurries by isotopic dilution calibration ICP-MS after chemical vapor generation using an on-line system or retention in an electrothermal vaporizer treated with iridium. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, p. 643-652, 2005.

91. MATUSIEWICZ, H.; SLACHCIŃSKI, M. Simultaneous determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in sonicate slurries of biological and environmental reference materials by hydride generation microwave induced plasma optical emission spectrometry (SS-HG-MIP-OES). **Microchem. J.**, v. 82, p. 78-85, 2006.
92. CAPELO-MARTÍNEZ, J. L.; XIMÉNEZ-EMBÚN, P.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Advanced oxidation processes for sample treatment in atomic spectrometry. **Trends Anal. Chem.**, v. 23, n. 4, p. 331-340, 2004.
93. HEININGER, P.; PELZER, J.; HENRION, R.; HENRION, G. Results of a complex round robin test with four river sediments. **Fresenius' J. Anal. Chem.** v. 360, p. 344-347, 1998.
94. RIBEIRO, A. S.; MORETTO, M. A. L.; ARRUDA, M. A. Z; CADORE, S. Analysis of powdered coffee and milk by ICP OES after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. **Microchim. Acta**, v. 141, n. 3-4, p. 149-155, 2003.
95. BRIMMER, S. P.; FAWCETT, W. R.; KULHAVY, K. A. Quantitative reduction of selenate ion to selenite in aqueous samples. **Anal. Chem.**, v. 59, n. 10, p. 1470-1471, 1987.
96. MOOR, C.; LAM, J. W. H.; STURGEON, R. E. A novel introduction system for hydride generation-inductively coupled plasma mass spectrometry: determination of selenium in biological materials. **J. Anal. At. Spectrom.** , v. 15, n.2, p. 143-149, 2000.
97. VOGEL, A. **Química analítica quantitativa**. 5 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 105-124, 1992.

98. KRIVAN, V.; PETRICK, K; WELZ,. B; MELCHER, M. Radiotracer error-diagnostic investigation of selenium determination by hydride-generation atomic absorption spectrometry involving treatment with hydrogen peroxide and hydrochloric acid. **Anal. Chem.** v. 57, n. 8, p. 1703-1706, 1985.
99. ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**, John Wiley & Sons, 1th Ed., p. 50-51, 1993.
100. NYGAARD, D. D.; LOWRY, J. H. Sample digestion procedures for simultaneous determination of arsenic, antimony, and selenium by inductively coupled argon plasma emission spectrometry with hydride generation. **Anal. Chem.**, v. 54, p. 803-807, 1982.
101. MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. Fourth ed, England , Ed, Pearson Education, Chapter 7, 2000.
102. BARROS NETO, B., SCARMINIO, I.S., BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos - pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2^a Ed. Unicamp: Campinas, SP, 2003.
103. TEÓFILO, R. F., FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.
104. BRODIE, K.; FRARY, B.; STURMAN, B.; VOTH, L. An automated vapor generation accessory for atomic absorption analysis. **Varian ICP-AES at work**, Austrália, AA 38, p. 1-8, 1983.
105. NASCENTES, C. C.; KORN, M.; SOUZA, C. S.; ARRUDA, M. A. Z. Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimisation conditions. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 1, p. 57-63, 2001.

106. BOER, J. L. M.; VELTEROP, M. Empirical procedure for the reduction of mixed-matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an internal standard and proportional correction. **Fresenius J. Anal. Chem.** v. 356, p. 362-370, 1996.
107. ABRANKÓ, L.; STEFÁNKA, Z.; FODOR, P. Possibilities and limits of the simultaneous determination of As, Bi, Ge, Sb, Se and Sn by flow injection-hydride generation-inductively coupled plasma-time-of-flight mass spectrometry (FI-HG-ICP-TOFMS). **Anal. Chim. Acta**, v. 493, p. 13 – 21, 2003.
108. BARRA, C.M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J.J.; GUARDIA, M. DE LA. Especificação de arsênio – uma revisão. **Quím. Nova**, v. 23, n. 1, p. 58-70, 2000.
109. FRANCESCONI, K. A.; KUEHNELT, D. Determination of arsenic species: a critical review of methods and applications, 2000-2003. **Analyst**, v. 129, p.373-395, 2004.
110. NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M. Analytical methods for determining arsenic, antimony and selenium in environmental samples. **Polish. J. Environ. studies**, v. 12, n. 6, p. 653-667, 2003.
111. GIACOMELLI, M. B. O.; LIMA, M. C.; STUPP, V.; JÚNIOR, R. M. C.; SILVA, J. B. B.; BARRERA, P. B. Determination of As, Cd, Pb and Se in DORM-1 dogfish muscle reference material using alkaline solubilization and electrothermal atomic absorption spectrometry with Ir + Rh as permanent modifiers or Pd + Mg in solution. **Spectrochim. Acta, Part B**, v. 57, p. 2151-2157, 2002.

112. WAKE, B D.; BOWIE, A. R.; BUTLER, E. C. V.; HADDAD, P. R. Modern preconcentration methods for the determination of selenium species in environmental water samples. **Trends Anal. Chem.** v. 23, n. 7, p. 491-500, 2004.
113. HILL, S. J.; PITTS, L.; WORSFOLD, P. Investigation into the kinetics of Selenium(VI) reduction using hydride generation atomic fluorescence detection. **J. Anal. At. Spectrom.** v. 10, p. 409-411, 1995.
114. LAN, W. G.; WONG, M. K.; SIN, Y. M. Comparison of four microwave digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by using hydride generation atomic absorption spectrometry. **Talanta** , v. 41, n. 2, p. 195-200, 1994.
115. CURTIUS, A. J.; SEIBERT, E. L.; FIEDLER, H. D.; FERREIRA, J.F.; VIEIRA, P.H.F. Avaliando a contaminação por elementos traço em atividades de maricultura. Resultados parciais de um estudo de caso realizado na ilha de Santa Catarina, Brasil. **Quím. Nova**, v. 26, n. 1, p. 44-52, 2003.
116. VALDÉS-HEVIA Y TEMPRANO, M. C.; FERNÁNDEZ DE LA CAMPA, M. R.; SANZ-MEDEL, A. Sensitive method for the determination of lead by potassium dichromate-lactic acid hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 8, p. 821-825, 1993.
117. MARRERO, J.; ARISNABARRETA, S. P.; SMICHOWSKI, P. Comparison of effects of four acid oxidant mixtures in the determination of lead in foods and beverages by hydride generation-ICP-OES. **At. Spectrosc.**, v. 24, n. 4, p. 133-142, 2003.

118. MADRID, Y.; CÁMARA, C. Lead hydride generation atomic absorption spectrometry: an alternative to electrothermal atomic absorption spectrometry – a review. **Analyst** , v. 119, p. 1647-1658, 1994.

119. CANKUR, O.; KORKMAZ, D.; ATAMAN, O. Y. Flow injection-hydride generation-infrared spectrophotometric determination of Pb. **Talanta**, v. 66, n. 3, p. 789-793, 2005.

7. TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O CURSO DE DOUTORADO NA UFSC

1. SANTOS, E. J. HERRMANN, A. B.; VIEIRA, M. A.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Evaluation of slurry preparation procedures for the determination of mercury by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry using on-line cold vapor generation. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 60, p. 659-665, 2005.
2. SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of As, Hg, Sb, Se and Sn in sediments by slurry sampling axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry using on-line chemical vapor generation with internal standardization. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 20, p. 538-543, 2005.
3. SANTOS, E.J.; HERRMANN, A. B.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Evaluation of slurry preparation procedures for the simultaneous determination of Hg and Se in biological samples by axial view ICP OES using on-line chemical vapor generation. **Anal. Chim. Acta**, v. 548, p. 166-173, 2005.
4. SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; FRESCURA, V. L. A.; WELZ, B. CURTIUS, A. J. Determination of lead in sediments and sewage sludge by on-line hydride-generation axial-view inductively-coupled plasma optical-emission spectrometry using slurry sampling. **Anal. Bioanal Chem.**, v. 388, n. 4, p. 863-868, 2007.
5. SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J. Determination of Cd in biological samples by flame AAS following on-line preconcentration by complexation with *O,O*-diethyldithiophosphate and solid phase extraction with Amberlite XAD-4. **Talanta**, v. 65, p. 593-597, 2005.

6. SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; OLKUSZEWSKI, J.L.; SAINT'PIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J. Determination of trace metals in electrolytic copper by ICP OES and ICP-MS. **Braz. Arch. Biol. Techn.**, v. 48, n. 5, p. 681-687, 2005.

7. SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; CHAVES, E. S.; VECHIATTO, W. W. D.; SCHOEMBERGER, A. C.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. **J. Anal. At. Spectrom.**, DOI 10.1039/b702563g, 2007.