



**UFSM**

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM SANGUE POR  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM TUBO AQUECIDO NA  
CHAMA APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS**

**Lucélia Hoehne**

**PPGQ**

**Santa Maria, RS – Brasil**

**2007**

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM SANGUE POR  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM TUBO AQUECIDO NA  
CHAMA APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS**

por

**Lucélia Hoehne**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Química  
da Universidade Federal de Santa Maria (RS),  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Química**

Santa Maria, RS – Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Departamento de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM SANGUE POR  
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM TUBO AQUECIDO NA  
CHAMA APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICROONDAS**

elaborada por  
**Lucélia Hoehne**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

**Dr. Érico Marlon de Moraes Flores - Orientador (UFSM-RS)**

---

**Dr. Sergio Roberto Mortari (UNIFRA-RS)**

---

**Dr. Valderi Luiz Dressler (UFSM-RS)**

Santa Maria, 25 de julho de 2007.

**Dedico este trabalho às pessoas que,  
de alguma forma, contribuíram para a  
realização deste.**

## AGRADECIMENTOS

---

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria, pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores, orientador e exemplo de professor e pesquisador.

Aos Profs. Dr. Valderi Luiz Dressler e Sergio Roberto Mortari, pelos conhecimentos transmitidos e pela participação como banca examinadora e pelas valiosas sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Neri Gottfried Paniz, pela confecção das peças de vidro e quartzo, pelo auxílio e sugestões para o aperfeiçoamento destas.

Aos colegas do Setor de Química Industrial e Ambiental, pela receptividade, companheirismo, contribuições e amizade.

Ao meu namorado, Carlos Henrique Haas Oliveira, pelo incentivo, compreensão e carinho durante todo tempo.

À minha família, Léo, Salete, Lizandra e Letícia Hoehne, pelo carinho, pela compreensão e ajuda financeira.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b><i>ix</i></b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b><i>xii</i></b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....</b>	<b><i>xiii</i></b>
<b>RESUMO.....</b>	<b><i>xv</i></b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b><i>xvi</i></b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Aspectos ambientais e toxicológicos do cádmio e chumbo.....</b>	<b>4</b>
2.1.1. Sangue.....	5
2.1.2. Casos de contaminação de cádmio e chumbo no sangue.....	6
<b>2.2. Preparo de amostras.....</b>	<b>8</b>
2.2.1. Decomposição de amostras em fornos de microondas.....	9
<b>2.3. Considerações gerais sobre o processo de combustão.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4. Decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas.....</b>	<b>13</b>
<b>2.5. Utilização de tubos aquecidos para determinações por F AAS..</b>	<b>15</b>
<b>2.6. Preparo de amostras para espectrometria de absorção atômica com amostragem de sólidos (SS-AAS).....</b>	<b>21</b>
<b>2.7. Incertezas nas determinações por SS-AAS.....</b>	<b>22</b>
<b>2.8. Calibração.....</b>	<b>23</b>
<b>2.9. Sistemas de atomização em chama para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica.....</b>	<b>24</b>

<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1. Instrumentação.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2. Reagentes.....</b>	<b>34</b>
<b>3.3. Amostras.....</b>	<b>35</b>
<b>3.4. Materiais diversos.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5. Sistema para a determinação de Cd e Pb em amostras sólidas por MIC-FF-AAS.....</b>	<b>36</b>
<b>3.6. Procedimentos utilizados para a determinação de Cd e Pb no sangue liofilizado e materiais usados para a calibração do equipamento.....</b>	<b>40</b>
3.6.1. Procedimento de descontaminação da grafite.....	40
<b>3.7. Preparo dos comprimidos.....</b>	<b>41</b>
<b>3.8. Procedimento proposto para a determinação de Cd e Pb por MIC-FF-AAS.....</b>	<b>41</b>
<b>3.9. Otimização do modelo da câmara de combustão.....</b>	<b>43</b>
<b>3.10. Otimização do suporte de quartzo utilizado no sistema de combustão.....</b>	<b>43</b>
<b>3.11. Otimização do volume de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 50% (m/v) para a combustão.....</b>	<b>43</b>
<b>3.12. Otimização da vazão de oxigênio mais adequada para o sistema MIC-FF-AAS.....</b>	<b>44</b>
<b>3.13. Otimização da estequiometria da chama para determinação de Cd e Pb por MIC-FF-AAS.....</b>	<b>44</b>
<b>3.14. Otimização da faixa de massa de amostra a ser utilizada no sistema MIC-FF-AAS.....</b>	<b>45</b>

<b>4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1. Estudo dos parâmetros operacionais.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2. Otimizações para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado por MIC-FF-AAS.....</b>	<b>53</b>
4.2.1.Otimização do modelo da câmara de combustão para o sistema MIC-FF-AAS.....	53
4.2.2. Otimização do modelo de suportes para as amostras.....	54
4.2.3.Tubos usados para transportar os vapores da câmara de combustão ao sistema de atomização.....	56
4.2.4. Volume de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 50% (m/v) necessário para o processo de combustão.....	57
4.2.5. Concentração de Cd e Pb no papel filtro e na grafite utilizado no processo de combustão.....	58
4.2.6. Vazão de oxigênio mais adequada para o sistema.....	58
4.2.7. Otimização da estequiometria da chama para o sistema MIC-FF-AAS.....	61
4.2.8. Avaliação da linearidade da curva analítica utilizando o sistema MIC-FF-AAS.....	63
4.2.9. Considerações finais quanto às condições de operação.....	70
<b>4.3. Determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado pelo sistema MIC-FF- AAS.....</b>	<b>70</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Sistema “copo de Delves” (adaptado da ref. 36).....	17
<b>Figura 2.</b>	Sistema “ <i>slotted-tube atom trap</i> ” (adaptado da ref. 71).....	18
<b>Figura 3.</b>	Sistema BIFF-AAS (adaptado da ref. 17).....	19
<b>Figura 4.</b>	Sistema TS-FF-AAS (adaptado da ref. 16).....	20
<b>Figura 5.</b>	Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização de amostras sólidas (adaptado da ref. 19).....	27
<b>Figura 6.</b>	Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras e atomização em cela posicionada na chama do queimador (adaptado da ref. 28).....	28
<b>Figura 7.</b>	Sistema para SS-F AAS utilizando encapsulamento da amostra em papel ou comprimidos de amostra com ágar, com vaporização e atomização na chama do queimador (adaptado da ref. 32).....	31
<b>Figura 8.</b>	Sistema para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama após combustão iniciada por microondas (adaptado da ref. 9 ).....	32
<b>Figura 9.</b>	Componentes do sistema de combustão.....	36
<b>Figura 10.</b>	Ilustração das conexões para o transporte dos produtos da combustão até o sistema de atomização: (a) tubo de PTFE-PFA e (b) tubos de quartzo.....	37
<b>Figura 11.</b>	sistema de atomização.(a) posicionamento do tubo metálico no queimador do espectrômetro. Tubos metálicos: (b) vista frontal e (c) vista inferior dos tubos utilizados para as determinações de (1) Cd e (2) Pb.....	38
<b>Figura 12.</b>	Esquema geral do sistema MIC-FF-AAS.....	39

<b>Figura 13.</b>	(a) Vista superior e (b) vista lateral dos comprimidos com 30 mg de grafite e com (1) 3,5 mg, (2) 50 mg e (3) 100 mg de sangue liofilizado.....	41
<b>Figura 14.</b>	Estudo das vazões de ar e acetileno para determinação de Cd .....	47
<b>Figura 15.</b>	Estudo das vazões de ar e acetileno para determinação de Pb.....	47
<b>Figura 16.</b>	Estudo da proporção de sangue liofilizado : grafite para a determinação de Cd .....	49
<b>Figura 17.</b>	Estudo da proporção de sangue liofilizado : grafite para a determinação de Pb.....	50
<b>Figura 18.</b>	Estudo da massa de grafite empregada para a determinação de Cd pelo sistema MIC-FF-AAS.....	51
<b>Figura 19.</b>	Estudo da massa de grafite empregada para a determinação de Pb pelo sistema MIC-FF-AAS.....	52
<b>Figura 20.</b>	Modelo da (a) câmara utilizada por Bartz <sup>9</sup> , (b) câmara em forma cônica e (c) câmara em peça única.....	53
<b>Figura 21.</b>	Modelo do (a) suporte para amostra proposto por Bartz e (b) suporte com fendas menores e com entrada de oxigênio passando na parte superior da amostra.....	55
<b>Figura 22.</b>	Suporte com fendas menores e passagem de oxigênio na parte inferior.....	55
<b>Figura 23.</b>	Ilustração do processo de combustão no sistema MIC-FF-AAS.....	57
<b>Figura 24.</b>	Estudo da vazão de O <sub>2</sub> mais adequada para a determinação de Cd.....	59
<b>Figura 25.</b>	Estudo da vazão de O <sub>2</sub> mais adequada para a determinação de Pb.....	60
<b>Figura 26.</b>	Estudo da influência da vazão de ar e acetileno para a determinação de Cd.....	61
<b>Figura 27.</b>	Estudo da influência da vazão de ar e acetileno para a determinação de Pb.....	62
<b>Figura 28.</b>	Curva de calibração obtida para Cd.....	63
<b>Figura 29.</b>	Curva de calibração obtida para Pb.....	64
<b>Figura 30.</b>	Resultados de concentração de Cd obtidos com o incremento de massa de sangue liofilizado.....	65

<b>Figura 31.</b>	Resultados de concentração de Pb obtidos com o incremento de massa de sangue liofilizado.....	65
<b>Figura 32.</b>	Câmara de combustão com material da amostra aderido nas paredes internas.....	66
<b>Figura 33.</b>	Perfil dos sinais analíticos para determinação de Cd após combustão de comprimidos de grafite com solução de referência e comprimidos de grafite com diferentes amostras.....	67
<b>Figura 34.</b>	Perfil dos sinais analíticos para determinação de Pb após combustão de comprimidos de grafite com solução de referência e comprimidos de grafite com sangue liofilizado.....	67
<b>Figura 35.</b>	Perfil do sinal de fundo para Cd, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados.....	68
<b>Figura 36.</b>	Perfil do sinal de fundo para Pb, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados.....	68

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b>	Programa de aquecimento utilizado para a decomposição de sangue liofilizado em forno de microondas.....	40
<b>Tabela 2.</b>	Condições de mistura de grafite com sangue previamente liofilizado.....	49
<b>Tabela 3.</b>	Condições de operação otimizadas para o sistema MIC-FF-AAS...	70
<b>Tabela 4.</b>	Resultados para Cd e Pb em sangue liofilizado e material de referência .....	71
<b>Tabela 5.</b>	Concentração de Cd e Pb em amostras de sangue.....	72
<b>Tabela 6.</b>	Massa de amostra (m), limite de detecção e massa característica em diferentes procedimentos de análise por espectrometria de absorção atômica com chama.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrometry*
2. BIFF-AAS, do inglês *beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry*
3. CDC, do inglês *Center for Disease Control*
4. CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*
5. CV AAS, espectrometria de absorção atômica com vapor a frio, do inglês *cold vapour atomic absorption spectrometry*
6. ET AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*
7. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*
8. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*
9. HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *high performance liquid chromatography*
10. IBMP, índice biológico máximo permitido
11. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*
12. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
13. IS, padrão interno, do inglês *internal standard*
14. LC-MS, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa
15. LD, limite de detecção
16. LQ, limite de quantificação
17. m/m, massa por massa
18. m/v, massa por volume

19. MIC-FF-AAS, espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama após combustão iniciada por microondas, do inglês *microwave induced combustion flame furnace atomic absorption spectrometry*
20.  $m_0$ , massa característica
21. Nd:YAIG, laser produzido por neodímio, ítrio e alumínio, do inglês *neodymium- yttrium-aluminum-garnet*
22. PFA, perfluoroalcóxi
23. PTFE, politetrafluoretileno
24. PTFE-PFA, politetrafluoretileno-perfluoroalcóxi
25. RSD, desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*
26.  $s$ , desvio padrão
27. SS-AAS, espectrometria de absorção atômica com amostragem de sólidos, do inglês *solid sampling atomic absorption spectrometry*
28. SS-F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama com amostragem de sólidos, do inglês *solid sampling-flame atomic absorption spectrometry*
29. STAT, tubo com fenda para trapeamento de átomos, do inglês *slotted-tube atom trap*
30. TS-FF-AAS, do inglês *thermospray-flame furnace-atomic absorption spectrometry*

## RESUMO

---

Neste trabalho foi utilizada uma técnica para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama após combustão iniciada por microondas (MIC-FF-AAS) para a determinação de cádmio e chumbo em sangue. Um tratamento inicial foi dado à amostra, sendo esta liofilizada, seca em estufa e moída. As amostras de sangue liofilizado foram prensadas, juntamente com grafite de alta pureza, na forma de comprimidos. Os comprimidos da amostra (sangue liofilizado + grafite) foram colocados sobre um papel de filtro e posicionados em um suporte de quartzo. O suporte foi colocado no interior de uma câmara de vidro adaptada no interior do forno de microondas do sistema MIC-FF-AAS. Solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) foi empregada como iniciador da combustão e um fluxo de oxigênio foi utilizado para a combustão e para o transporte dos vapores formados até o sistema de atomização. A atomização foi feita em um tubo metálico posicionado sobre a chama (ar e acetileno) de um espectrômetro de absorção atômica com chama. A calibração foi feita empregando-se soluções de referência adsorvidas em comprimidos de grafite. Após a avaliação das condições operacionais, os seguintes parâmetros foram escolhidos: combustão empregando 20 mg de papel de filtro, 40  $\mu\text{l}$  de solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) e vazão de oxigênio de 1  $\text{l min}^{-1}$ , vazão de ar e acetileno de 16 e 2  $\text{l min}^{-1}$  para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado, uso de tubos metálicos sem furos na base (para Cd) e com 12 furos na base (para Pb). A técnica permite a introdução de até 50 mg de sangue tendo um limite de quantificação de 20  $\text{ng g}^{-1}$  para Cd e 2,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Pb. A massa característica foi de 50  $\mu\text{g}$  para Cd e 4,5  $\text{ng}$  para Pb. Resultados concordantes foram obtidos entre a técnica de MIC-FF-AAS e os valores para materiais de referência ou com os obtidos pela técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. A técnica permitiu uma frequência de 15 determinações por hora (excluindo-se as etapas prévias até a confecção dos comprimidos com grafite).

**ABSTRACT**

---

In this work a procedure for Cd and Pb determination by solid sampling flame furnace atomic absorption spectrometry after microwave induced combustion (MIC-FF-AAS) is used. Human blood samples were priory lyophilized, dried, ground, mixture with graphite, pressed and placed on a filter paper positioned on a quartz holder, that was introduced in a glass device inside a microwave oven. The microwave oven was modified making possible an oxygen flow for combustion step and to transport the combustion products to the AAS spectrometer. Ammonium nitrate solution 50% (w/v) was used to start the ignition step. Atomization was performed in a metallic tube heated into air and acetylene flame. Calibration was carried out using aqueous reference solutions pipetted into graphite pellets. After operational conditions optimization, the suitable parameters were: 20 mg of paper filter to start combustion with 40  $\mu\text{l}$  of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (w/v), 1  $\text{l min}^{-1}$   $\text{O}_2$  flow rate and air and acetylene flow rates were 16 and 2  $\text{l min}^{-1}$  for determination of Cd and Pb in lyophilized blood using tubes without for Cd and with 12 holes for Pb. At the chosen conditions it was possible the introduction of around 50 mg of sample and quantification limits of 20  $\text{ng g}^{-1}$  and 2.2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , for Cd and Pb, respectively. The obtained characteristic masses were 50 pg for Cd and 4.5 ng for Pb. No significant differences were observed when comparing the obtained results using the proposed procedure with certified reference materials values or with those obtained by inductively coupled plasma mass spectrometry, after acid digestion. The sample throughput was 15 determinations per hour, excluding previous steps until weighing step.



## 1. INTRODUÇÃO

---

O interesse acerca da acumulação e toxicidade de metais pesados, como Cd e Pb, tem crescido nos últimos anos como consequência da exposição ocupacional e ambiental.<sup>77</sup> A intoxicação por metais pesados provoca sintomas específicos e um quadro clínico próprio a curto ou longo prazo. Dessa forma, o biomonitoramento é uma importante ferramenta na medicina ocupacional, avaliando a evolução dos níveis de exposição a estes metais em grupos de pessoas expostas a ambientes predispostos à intoxicação.<sup>110</sup> Assim, um acompanhamento periódico, através da análise de fluidos biológicos como, p.ex., o sangue, pode auxiliar a avaliação dos efeitos tóxicos no organismo humano.<sup>78,100</sup>

O chumbo e o cádmio são metais pesados conhecidos por causar efeitos adversos à saúde humana. A concentração destes metais no sangue pode ser utilizada para monitorar a exposição a esses elementos, que pode ser oriunda do ar, absorção cutânea ou ingestão de alimentos contaminados.<sup>1,2</sup> Neste sentido, é de grande importância o emprego de técnicas analíticas que permitam a quantificação de cádmio e chumbo em baixas concentrações com boa frequência de determinação, e que sejam acessíveis a laboratórios de pequeno porte.

Dentre as técnicas disponíveis para a determinação de metais em diversos tipos de amostras, a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS)

---

<sup>1</sup> Agency for Toxic Substance Disease Registry, *Toxicological Profile for Cadmium*.

<sup>2</sup> Agency for Toxic Substance Disease Registry, *Toxicological Profile for Lead*.

<sup>77</sup> MOREIRA F. R., MOREIRA, J. C., *Quím. Nova* 27 (2004) 251-260.

<sup>78</sup> MORTARI S. R., Tese de Doutorado, PUC, Rio de Janeiro/RJ, 2001.

<sup>100</sup> TAYLOR, A. *et al.*, *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 80 (2007) 254-264.

<sup>110</sup> WILHELM, M., SCHULZ, C., SCHWENK, M., *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209 (2006) 301-305.

tem sido amplamente utilizada. No entanto, uma limitação da técnica é a baixa eficiência relativa ao processo de nebulização da amostra e a dispersão dos átomos dos analitos gerados na chama, resultando em menor sensibilidade e na obtenção de piores limites de detecção (LD), em comparação a outras técnicas, como, p.ex. a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).<sup>108</sup> Ainda, a necessidade de utilização de amostras na forma líquida implica, normalmente, na necessidade de sua solubilização e, mais comumente, de uma etapa de decomposição.

A decomposição é uma etapa que despende muito tempo podendo ser este, inclusive, superior ao da própria etapa de determinação.<sup>61</sup> Nesta etapa pode haver a contaminação da amostra e/ou a perda de analitos por volatilização. Ainda, os ácidos comumente utilizados na etapa de decomposição podem aumentar os riscos ao analista, além de implicar em uma etapa adicional para o tratamento dos resíduos gerados.<sup>12</sup>

Dessa forma, o desenvolvimento de procedimentos que substituam a decomposição das amostras por via úmida<sup>97</sup>, aliado às técnicas que melhorem o limite de quantificação (LQ) de sistemas convencionais por F AAS, como a utilização de tubos posicionados sobre a chama<sup>16,17</sup>, podem viabilizar a aplicação da técnica para a determinação de metais em níveis mais baixos.<sup>71</sup>

Baseando-se nos pressupostos acima, recentemente foi proposto um sistema para combustão de amostras sólidas iniciada por radiação microondas, com determinação em linha de Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama. A técnica, denominada de MIC-FF-AAS (do inglês, *microwave induced combustion flame furnace atomic absorption spectrometry*) foi utilizada para a combustão de amostras de tecido vegetal e a calibração foi

---

<sup>12</sup> BELARRA, M. A. *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

<sup>16</sup> BERNDT, H., DAVIES, J., *Anal. Chim. Acta* 479 (2003) 215-223.

<sup>17</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Anal. Chem.* 72 (2000) 240-246.

<sup>61</sup> KURFÜRST, U., Berlin: Springer, 1998. 423p.

<sup>71</sup> MATUSIEWICZ, H., *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1711-1736.

<sup>97</sup> ROSSBACH, M., GROBECKER, K., Homogeneity, *Accred. Qual. Assur.* 4 (1999) 498-503.

<sup>108</sup> WELZ, B., SPERLING, M., Weinheim: Wiley-VHC, 1999. 941p.

possível com soluções de referência adsorvidas em papel filtro, demonstrando resultados concordantes com materiais de referência certificados (CRM) ou com os obtidos por outras técnicas (GF AAS e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, ICP-MS). Além disso, houve melhora nos limites de detecção e quantificação, em relação à técnica convencional de F AAS, e baixos valores de *background* foram registrados.<sup>9</sup>

Desta forma, a fim de demonstrar a potencialidade desta técnica para a combustão de outras amostras com matriz predominantemente orgânica, o presente estudo teve por objetivo principal avaliar a aplicabilidade do sistema MIC-FF-AAS para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado. Assim, foi feito um estudo sistemático para avaliação dos parâmetros operacionais, bem como as características analíticas principais. A exatidão do procedimento proposto foi avaliada empregando-se materiais de referência, bem como por comparação dos resultados obtidos por ICP-MS, após decomposição por via úmida.

---

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

### 2.1. Aspectos ambientais e toxicológicos do cádmio e chumbo

Cádmio é encontrado naturalmente em vegetais, água, solo e na atmosfera. Devido a sua aplicação tecnológica (fabricação de pigmentos, baterias, células fotovoltaicas, lâmpadas, etc), pode estar disponível em concentrações maiores próximos a centros industrializados.<sup>21,65</sup> A intoxicação aguda de Cd produz um quadro clínico característico. De 4 a 10 horas após a exposição, surgem dificuldades para respiração e tosse muitas vezes acompanhadas de dores musculares acentuadas, fadiga, cefaléia e vômitos. Nos casos mais graves podem ocorrer hipotensão, insuficiência renal, distúrbios da função pulmonar, podendo persistir por meses, ou até mesmo levar ao óbito.<sup>14,112,113</sup> A exposição crônica ao Cd, presente em aerossóis, por um período prolongado (aproximadamente 10 anos), pode resultar no desenvolvimento de enfisema pulmonar, mesmo depois de muito tempo sem exposição a este elemento, além de possibilidade de lesão no nervo olfatório. A exposição oral ou a aerossóis, a longo prazo, pode provocar insuficiência renal progressiva.<sup>14,101,102</sup>

O chumbo pode ocorrer como contaminante ambiental devido ao seu amplo emprego, destacando-se a indústria extrativa, petrolífera, de tintas e corantes, cerâmica, gráfica, bélica, próteses dentárias, estabilizantes plásticos,

---

<sup>14</sup> BENNETT, G., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. 1266p.

<sup>21</sup> BERTIN G., AVERBECK, D., *Biochimie* 88 (2006) 1549–1559.

<sup>65</sup> LARINI, L., Manole Ltda.: São Paulo, 1997.

<sup>101</sup> TELISMAN, S. *et al.*, *Environ. Health Perspect.* 108 (2000) 45-53.

<sup>102</sup> TELISMAN, S. *et al.*, *Int. Arch. Occup. and Environ. Health* 70 (1997) 243-248.

<sup>112</sup> World Health Organization, *Environmental Health Criteria 85 - Inorganic Lead.*

<sup>113</sup> World Health Organization, *Environmental Health Criteria 134 - Cadmium.*

entre outras aplicações.<sup>14,65</sup> Vários estudos têm sido feitos a respeito da contaminação do Pb na água, em áreas urbanas e suburbanas, assim como a contaminação de solos, proveniente de fontes naturais ou geológicas, ou mesmo decorrente de atividades antropogênica, como a mineração, indústria ou transporte, sendo sua concentração dependente do local.<sup>65</sup> No Brasil, estima-se uma ingestão diária em torno de 13 µg de chumbo por kg de massa corpórea, proveniente de alguns alimentos consumidos, como frutas, vegetais, carnes, leites, peixes e outros produtos da pesca.<sup>90</sup>

A intoxicação com chumbo pode provocar distúrbios no sistema nervoso, manifestações de apatia, cefaléia, vômitos, paralisia dos nervos cranianos, convulsões, cegueira e coma. Nos casos mais graves, pode causar o saturnismo ou plumbismo, que é a doença decorrente da intoxicação por exposição a este elemento durante longo prazo. Além disso, a função renal é comprometida. O chumbo também pode atravessar rapidamente a placenta e acredita-se que possa ser responsável por abortos, devido a lesões no sistema nervoso central do feto.<sup>14,65,112</sup>

Desta forma, o monitoramento de cádmio e chumbo permite uma avaliação das possíveis rotas de contaminação, permitindo a adoção de medidas preventivas. Sob este aspecto, o teor destes elementos encontrados no sangue pode representar um indicativo decorrente da poluição ambiental e ocupacional.

### 2.1.1. Sangue

O sangue é um tecido conjuntivo líquido e que tem como função a manutenção da vida do organismo. No corpo de um adulto circulam, em média 5 litros de sangue, variando de acordo com o peso. O sangue é formado por parte

---

<sup>14</sup> BENNETT, G., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. 1266p.

<sup>65</sup> LARINI, L., Manole Ltda.: São Paulo, 1997.

<sup>90</sup> OGA, S., Atheneu: São Paulo, 2003. 474p.

<sup>112</sup> World Health Organization, *Environmental Health Criteria 85 - Inorganic Lead*.

líquida (plasma), constituído por água, sais, vitaminas e fatores de coagulação, na qual estão misturadas as partes sólidas: hemáceas, leucócitos e plaquetas.<sup>79</sup>

### 2.1.2. Casos de contaminação de cádmio e chumbo no sangue

No Brasil, alguns trabalhos evidenciaram casos de contaminações por cádmio e chumbo, como em 1985, na Bahia, um estudo de intoxicação por chumbo e cádmio em trabalhadores de oficinas de baterias. Foi verificado que a concentração média de cádmio no sangue era extremamente elevada:  $0,83 \mu\text{g dl}^{-1}$ , com 97,4% dos operários excedendo o limite de tolerância de  $0,1 \mu\text{g dl}^{-1}$ . A concentração média de chumbo no sangue foi de  $4,29 \mu\text{g dl}^{-1}$ .<sup>30</sup>

Outro estudo feito em 1987, no estado de Minas Gerais, 52% dos trabalhadores de uma indústria de baterias encontravam-se intoxicados por chumbo. Também, os operários da maior fábrica de acumuladores elétricos da cidade de Campinas (SP) estavam contaminados por este elemento em 1989. Já em Bauru (SP), foram identificados 800 casos de saturnismo em trabalhadores de duas indústrias de acumuladores elétricos entre 1985 e 1987.<sup>77</sup>

Em 1998, na Bahia, foi feito um estudo com crianças que moravam perto de uma fábrica de fundição de chumbo, desativada em 1993. A média de concentração de chumbo no sangue foi de  $17,1 \mu\text{g dl}^{-1}$ , mostrando ser uma fonte de risco para os moradores.<sup>29</sup> Em 2001, em São Paulo, foi evidenciada a contaminação da população e do meio ambiente por chumbo nas

---

<sup>29</sup> CARVALHO, F. M. *et al.*, *Rev. Panam. Salud. Publica/Pan Am. J. Public Health* 13 (2003) 19-24.

<sup>30</sup> CARVALHO, F. M. *et al.*, *Rev. Saúde Públ.* 19 (1985) 411-420.

<sup>77</sup> MOREIRA F. R., MOREIRA, J. C., *Quím. Nova* 27 (2004) 251-260.

<sup>79</sup> MOTTA, V. T., Médica Missau: Porto Alegre, 2003.

circunvizinhanças de três mineradoras, que atuaram no refino dos minérios na região da bacia do Rio Ribeira de Iguapé entre 1920 e 1996.<sup>37</sup>

Em 2004, em um trabalho feito por Neto *et al.*, em São Paulo, foram encontrados, no sangue, concentrações de 0,2  $\mu\text{g dl}^{-1}$  de Cd e de 9,0 a 28,2  $\mu\text{g dl}^{-1}$  de Pb. O trabalho foi realizado usando Ag como padrão interno (IS), com a determinação simultânea de Cd e Pb em sangue por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS).<sup>85</sup> Trabalhos com IS têm sido usados com a finalidade de compensar erros randômicos e sistemáticos e melhorar a precisão dos resultados.<sup>82,83,84</sup>

De acordo com a legislação brasileira, o Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP) é o valor máximo do indicador biológico para o qual se supõe que a maioria das pessoas ocupacionalmente expostas não corre risco de dano à saúde. O valor estipulado para o Pb inorgânico no sangue é de 60  $\mu\text{g dl}^{-1}$ . Segundo recomendação do Ministério da Saúde, a determinação de chumbo no sangue deve ser feita através da técnica de GF AAS.<sup>88,94,103</sup> E, de acordo com o *Center for Disease Control* (CDC), nos Estados Unidos, estabelece como 10  $\mu\text{g dl}^{-1}$ , a concentração sangüínea aceitável de chumbo em crianças.<sup>14</sup>

Para o Cd, o IBMP é determinado na urina, sendo de 5  $\mu\text{g g}^{-1}$  de creatinina.<sup>25</sup> Porém, em legislações internacionais, como a da Alemanha,<sup>10,109</sup>

<sup>10</sup> BECKER, K. *et al.*, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 205 (2002) 297-308.

<sup>14</sup> BENNETT, G., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. 1266p.

<sup>25</sup> BRASIL, São Paulo, Hucitec, 1988.

<sup>37</sup> Estado de São Paulo, Jornal.

<sup>82</sup> NETO, J. A. G. *et al.*, *Food Chemistry* 93 (2005) 355-360.

<sup>83</sup> NETO, J. A. G. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 759-763.

<sup>84</sup> NETO, J. A. G., OLIVEIRA, S. R., *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi: 10.1016/j.sab.2007.06.007.

<sup>85</sup> NETO, J. A. G. *et al.*, *J. Anal. Atomic. Spectrom.* 19 (2004) 917-922.

<sup>88</sup> Norma Regulamentadora 7 - Programa de controle médico de saúde ocupacional (107.000-2).

<sup>94</sup> Protocolos de Complexidade Diferenciada: 4 série a, normas e manuais técnicos.

<sup>103</sup> TSALEV, D. L., CRC: Florida, 1995.

<sup>109</sup> WILHELM, M., EWERS, U., SCHULZ, C., *Int. J. Hyg. Environ. Health* 207 (2004) 69-73.

existem valores de referência, que são valores possíveis de serem encontrados em populações não expostas ocupacionalmente, sendo o valor de  $0,1 \mu\text{g dl}^{-1}$  de Cd no sangue.

Vários trabalhos, em diversos países mostraram casos de intoxicação de cádmio e chumbo em pessoas,<sup>47,67,92,110</sup> porém, verificou-se que nos últimos anos houve uma redução nos valores de concentração destes elementos, no sangue, provavelmente pela remediação da exposição, associada à diminuição dos valores máximos permitidos pelas legislações. Sendo assim, o desenvolvimento de técnicas mais sensíveis que possam ser implementadas para o controle destes metais neste tipo de amostra, se torna importante.

## 2.2. Preparo de amostras

O preparo da amostra é uma etapa do procedimento analítico que consiste em submeter à amostra a um tratamento, visando a sua preparação para as etapas subseqüentes.<sup>74,111</sup> É importante observar que, dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento da amostra é a mais crítica. Em geral, é nesta etapa que pode estar sujeito a cometer erros. É também a etapa de maior custo. Desta forma, as etapas de pré-tratamento de amostras devem ser sempre cuidadosamente consideradas.<sup>59</sup>

Alguns erros que podem ocorrer na etapa de pré-tratamento da amostra, são: amostragem inapropriada, contaminação da amostra, efeitos de adsorção e/ou dessorção nas paredes internas dos frascos, perdas de elementos por volatilização, reações incompletas ou indesejáveis, influência da matriz.<sup>12,69</sup>

---

<sup>12</sup> BELARRA, M. A., *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

<sup>47</sup> GERSHANI, J. J., BROOKS, G., LITTLE, J. A., *J. Pediatr.* 84 (1974) 112-113.

<sup>59</sup> KNAPP, G., *Mikrochim. Acta* 2 (1991) 445-455.

<sup>67</sup> LAUWERYS, R. *et al.*, *Environ. Res.* 20 (1979) 375-39.

<sup>69</sup> MAGALHÃES, C. E. C., ARRUDA, M. A. Z., *Quím. Nova* 21 (1998) 459-466.

<sup>74</sup> MESTER, Z., STURGEON, R. (Eds.), Amsterdam: Elsevier, 2003.

<sup>92</sup> PALLOTTI, G. *et al.*, *Sci. Total Environ.* 31 (1983) 81-87.

<sup>110</sup> WILHERM, M. *et al.*, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210 (2007) 307-318.

<sup>111</sup> WILLIS, J. B., *Anal. Chem.* 47 (1975) 1752-1758.



Porém, sempre que possível, deve-se simplificar ou eliminar a etapa de pré-tratamento da amostra, reduzindo o tempo total da análise e minimizando o risco de contaminações.

### 2.2.1. Decomposição de amostras em fornos de microondas

A radiação microondas tem sido empregada para a decomposição de amostras, a fim de tornar o procedimento mais rápido, reduzindo o volume de reagentes e a contaminação, oferecendo mais segurança, além de permitir controle da temperatura e da pressão. Os dois mecanismos fundamentais, responsáveis pela transferência de energia do campo eletromagnético das microondas, são a rotação de dipolo e a condução iônica. A rotação de dipolo é a interação na qual moléculas polares tentam se alinhar com a mudança rápida de campo eletromagnético das microondas. Este movimento rotacional de alinhamento e retorno a “desordem” do sistema, resulta na transferência de energia com o conseqüente aquecimento das substâncias. Já a condução iônica, que ocorre de maneira similar, é a interação do campo eletromagnético oscilante com íons presentes no meio.<sup>74</sup>

A partir de 1980, foram feitos os primeiros trabalhos de desenvolvimento de fornos de microondas para uso específico em laboratório, em especial para a decomposição de amostras com sistemas que possibilitassem a programação do aquecimento de acordo com o tipo de material em análise, proporcionando maior robustez ao método. Mais tarde, os fornos foram adaptados para a utilização de sistemas com frascos fechados, onde a perda de analitos por volatilização e a contaminação das amostras puderam ser reduzidas.<sup>74,99</sup> Posteriormente, sistemas em linha foram propostos para a determinação de elementos tóxicos e voláteis, associando o sistema de decomposição por microondas, com o sistema de determinação. Assim, contaminações e perdas por volatilização puderam ser

---

<sup>74</sup> MESTER, Z., STURGEON, R. (Eds.), Amsterdam: Elsevier, 2003.

<sup>99</sup> SMITH, F. E., ARSENAULT, E. A., *Talanta* 43 (1996) 1207-1268.

minimizadas.<sup>95</sup> O procedimento consiste em formar uma suspensão da amostra, em solução ácida em um recipiente fechado e mantido sob agitação. A suspensão é aspirada com o auxílio de uma bomba peristáltica, passando por uma bobina localizada na cavidade do forno, onde ocorre a digestão da amostra. Na saída do forno de microondas, sistemas de resfriamento dos vapores formados e/ou sistemas para remoção dos gases gerados durante a etapa de decomposição podem ser acoplados, sendo a amostra então levada até o sistema de detecção com o auxílio de um fluxo carreador.<sup>35</sup> Em 1993, um sistema em linha foi utilizado para determinação de Cu, Mn, Pb e Zn em vegetais, produtos dietéticos e sedimento marinho. A suspensão da amostra (20 a 250 mg em 10 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado) era injetada em confluência com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o aquecimento feito em forno de microondas antes das determinações por F AAS. A frequência analítica era de 180 amostras por hora. Foi observada boa concordância com materiais de referência certificados.<sup>34</sup>

No mesmo ano, Guo *et al.*,<sup>51</sup> propuseram um procedimento de análise em fluxo com microondas para amostras de sangue bovino e humano, visando a determinação de Hg através de espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV AAS). A amostra diluída (0,5 ml) era carreada até o forno de microondas e, após a digestão e resfriamento, o digerido era misturado com uma solução de KMnO<sub>4</sub>. Em seguida, NaBH<sub>4</sub> era adicionado por meio de uma segunda confluência para redução de Hg(II) para Hg(0). O mercúrio, na forma de vapor, foi introduzido numa cela de quartzo adaptada a um espectrômetro de absorção atômica com chama, usando argônio como transportador. Os resultados foram concordantes com materiais certificados e com outras técnicas.

Arruda *et al.*,<sup>5</sup> em 1997, propuseram um procedimento envolvendo decomposição em linha auxiliada por microondas para determinação de Pb em peixes por GF AAS. Uma mistura de 300 µl da amostra em suspensão (peixe liofilizado em solução de HNO<sub>3</sub> e Triton X-100) e 400 µl de solução de HNO<sub>3</sub>

---

<sup>5</sup> ARRUDA, M. A. Z., SANTELLI, R., E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638-643.

<sup>34</sup> De la GUARDIA, M. *et al.*, *Talanta* 40 (1993) 1609-1617.

<sup>35</sup> De la GUARDIA, M. *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 238 (1990) 417-421.

<sup>51</sup> GUO, T., BAASNER, J., *Talanta* 40 (1993) 1927-1936.

<sup>95</sup> REIS, B. V., *Quím. Nova* 19 (1996) 51-58.

6 mol l<sup>-1</sup> foi carregada com o auxílio de uma bomba peristáltica para um reator de politetrafluoretileno (PTFE) com 500 cm de comprimento e com 0,8 mm de diâmetro interno, posicionado dentro do forno de microondas. A amostra processada foi coletada em uma cubeta do amostrador de um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite. Os resultados obtidos foram concordantes com os indicados para CRM e com os obtidos após a decomposição nítrico-perclórica da amostra. Valores de desvio padrão relativo (RSD) em torno de 10% foram encontrados para o método proposto.

Diversos trabalhos foram publicados com inovações na área de decomposições com microondas, como o uso de mini-frascos, sistemas fechados, novos modelos de fornos de microondas com monitoramentos de temperatura, pressão, sendo que mais informações podem ser consultadas em livros e revisões em periódicos especializados.<sup>23,42,43,58,74,75,87,91,99,116</sup>

### 2.3. Considerações gerais sobre o processo de combustão

O processo de combustão, normalmente, envolve dois componentes: um combustível e um oxidante. Um sistema simples de combustão pode ocorrer quando há a pré-mistura dos dois na forma gasosa, sendo aquecidos lentamente em um local fechado. Se a temperatura não ultrapassar um determinado valor, esta será dissipada pelas paredes do recipiente. Dessa forma, pode ocorrer uma combustão lenta. Porém, após certo limite de temperatura, dependendo das propriedades físicas do combustível, do oxidante e do recipiente, a taxa de liberação de energia da reação química pode exceder a taxa de perda de energia pelo recipiente. Se isto ocorrer, a temperatura aumenta rapidamente com

<sup>23</sup> BRANCALION, M. L., ARRUDA, M. A. Z., *Microchim. Acta* 150 (2005) 283–290.

<sup>42</sup> FLORES, E. M. M., Tese de Doutorado, PPGEM, UFRGS, Porto Alegre/RS, 1997.

<sup>43</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 1419–1423.

<sup>58</sup> KINGSTON, H. M., JASSIE, L. B., ACS Professional Reference Book: Washington D. C., 1988.

<sup>74</sup> MESTER, Z., STURGEON, R. (Eds.), Amsterdam: Elsevier, 2003.

<sup>75</sup> Milestone, *Application notes for digestion*, Milestone, Itália: 2006.

<sup>87</sup> NÓBREGA, J. A. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855-1876.

<sup>91</sup> OLIVEIRA, E., *J. Braz. Chem. Soc.* 2 (2003) 174-182.

<sup>99</sup> SMITH, F. E., ARSENAULT, E. A., *Talanta* 43 (1996) 1207-1268.

<sup>116</sup> ZLOTORZYNSKI, A., *Crit. Rev. Anal. Chem.* 25 (1995) 43-76.

conseqüente aumento da velocidade da reação. Enquanto os componentes da reação estiverem disponíveis, a velocidade da reação aumenta, levando a uma aceleração desta e um aumento violento da pressão, podendo acarretar uma explosão. O estado no qual a auto-aceleração da reação ocorre é denominado de ignição e corresponde a temperatura de ignição ou temperatura de auto-ignição.<sup>8</sup>

Praticamente, todos os fenômenos de combustão são acompanhados pela emissão de luz e, embora a maioria das informações disponíveis seja de estudos com chamas, efeitos similares são observados para outros sistemas. Se uma chama estiver em completo equilíbrio termodinâmico, então os gases aquecidos devem emitir uma radiação contínua de acordo com a sua temperatura. Apesar da oxidação de compostos orgânicos, geralmente, levar à formação de monóxido e dióxido de carbono, chamas ricas em combustíveis tendem a formar, também, carbono no estado sólido. Isto causa uma intensa coloração amarela destas chamas e podem levar a formação de partículas de carbono, chamadas de fuligem que podem se depositar em superfícies mais frias. A natureza da fuligem varia, quimicamente e fisicamente, com a posição da chama. Uma partícula chamada de “nova”, possui um diâmetro de, aproximadamente, 5 nm, que, por aglomeração, pode formar partículas de 200 nm ou mais. O conteúdo de hidrogênio na fuligem é cerca de 1% em massa, correspondendo à forma empírica  $C_8H$ . Microscopicamente, a fuligem apresenta-se como um aglomerado de várias partículas esféricas, medindo 1,3 por 2,1 nm.<sup>8</sup>

A reação de combustão em sólidos segue os mesmos fenômenos básicos observados nos gases, mas amostras sólidas possuem condutividade térmica uma ordem de magnitude maior e difusividades que são várias ordens de grandeza menores do que nos gases. Apesar de se tratar de materiais sólidos, a combustão raramente ocorre em fase sólida. A temperatura na zona de reação está bem acima do ponto de fusão do sólido, sendo que este pode entrar nesta zona como um líquido. Por outro lado, o material pode vaporizar e a reação pode ocorrer na fase gasosa.<sup>8</sup>

---

<sup>8</sup> BARNARD, J. A., BRADLEY, J. N., New York: Chapman and Hall, 1985. 308p.

## 2.4. Decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas

Barin,<sup>6</sup> em 2003, propôs um procedimento de combustão iniciada por radiação microondas, em sistema fechado, para a determinação de metais e não-metals em produtos farmacêuticos. O sistema foi adaptado em frascos comerciais de perfluoralcóxi (PFA), empregados rotineiramente para o preparo de amostras (Prolabo<sup>®</sup> mod. 7195). Este consiste de um dispositivo de quartzo, fixado a tampa do frasco de decomposição, que serve como suporte da amostra, e também, como protetor das paredes e da tampa do frasco, da chama gerada durante o processo de combustão. A amostra foi embalada em um invólucro de papel, ao qual foi adicionada uma solução de nitrato de amônio (utilizada como iniciador de combustão). Foi adicionado ácido nítrico como solução absorvedora, sendo então o sistema fechado e colocado no interior de um forno de microondas doméstico. Uma vez iniciada a irradiação com microondas, o tempo necessário para o início da combustão foi de cerca de 15 s. O tempo de irradiação foi de 30 s e o tempo de combustão da amostra foi de cerca de 10 s. A concordância entre os resultados encontrados com o referido para amostras certificadas de vegetais e leite em pó foi de 88 a 107%, quando empregada apenas a combustão para a decomposição, e de 95 a 103%, quando uma etapa adicional de refluxo foi realizada após a combustão. O teor de carbono residual nas amostras de estearato de magnésio, após a decomposição, foi menor que 1%, demonstrando a eficiência do sistema de decomposição.

Flores *et al.*,<sup>38</sup> determinaram Cd e Cu por F AAS em amostras certificadas de fígado bovino, rim de porco e leite desnatado, após combustão iniciada por microondas em sistema fechado. As amostras, de 50 a 250 mg, foram envolvidas em papel e posicionadas sob um suporte de quartzo desenvolvido para este fim. O suporte foi colocado em um frasco de quartzo de um forno de microondas comercial (Multiwave 3000<sup>®</sup> microwave sample preparation system, Anton Paar) para digestão de amostras em sistema fechado, contendo 6 ml de ácido nítrico concentrado como solução absorvedora. Foram adicionados ao papel que

<sup>6</sup> BARIN, J. S., Dissertação de Mestrado, PPGCTF, UFSM, Santa Maria/RS, 2003.

<sup>38</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3525-3529.

envolvia a amostra 50 µl de solução de nitrato de amônio 6 mol l<sup>-1</sup>, como iniciador do processo de combustão. Após fechamento hermético dos frascos, estes foram posicionados no rotor e pressurizados com oxigênio (15 bar por 2 min cada). Para a etapa de combustão foram selecionados os seguintes parâmetros: 1400 W de potência por 20 s. O início da combustão ocorreu, em geral, após 3 s de irradiação. O carbono residual, para uma amostra de 250 mg foi cerca de 1,3%. Quando uma etapa adicional de refluxo (8 min) foi realizada após combustão, este valor diminuía para 0,4%. Cerca de 99% do ácido permanece após a combustão, indicando que o ácido nítrico não foi o principal agente da decomposição. Os resultados na determinação de Cd e Cu, nas amostras, foram concordantes com os valores certificados. Os autores mencionaram que o procedimento proposto era mais rápido do que a digestão das amostras pelo sistema convencional (utilizando um forno de microondas com frascos de quartzo e sistema fechado), consumindo menos reagente e reduzindo o tempo total da etapa de decomposição. Ainda, o suporte de quartzo utilizado é facilmente adaptável aos frascos do sistema convencional, demonstrando que este procedimento pode ser facilmente aplicado em análises de rotina.

Estudos relacionando a eficiência de queima com o modelo de suporte utilizado foram feitos por Mesko<sup>72</sup> para a determinação de Cu e Zn em amostras biológicas por F AAS. No procedimento de decomposição foi empregado um forno de microondas comercial equipado com frascos de quartzo. Um suporte de quartzo era suspenso na parte superior do frasco de digestão servindo, também, para proteção da tampa do frasco que era de PTFE. Também, foram avaliadas diferentes soluções absorvedoras e foi avaliado o emprego da etapa de refluxo posterior ao processo de combustão para a determinação de Cu e Zn em amostras de fígado bovino, leite em pó e tecido de ostra por F AAS. Massas de amostra de até 500 mg foram empregadas e ácido nítrico concentrado, soluções de ácido nítrico 2 e 4 mol l<sup>-1</sup> e água destilada/deionizada foram usados como soluções absorvedoras. Para a determinação de Zn, água destilada pode ser empregada como solução absorvedora, sem a necessidade de uma etapa adicional de refluxo. Já para a determinação de Cu, uma solução de ácido nítrico 4 mol l<sup>-1</sup> foi empregada, ao invés de ácido nítrico concentrado, desde que se

---

<sup>72</sup> MESKO, M. F., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2004.

efetue uma etapa de refluxo (5 min) após a etapa de combustão. Os resultados obtidos foram concordantes, se comparados com o sistema convencional de decomposição de amostras utilizando forno de microondas com sistema fechado.<sup>73</sup>

Moraes *et al.*,<sup>76</sup> em 2007, fizeram um trabalho para a decomposição de elastômeros em sistema fechado por combustão iniciada por microondas. Massas de amostra de até 450 mg podiam ser decompostas. Como auxiliar da combustão, foram empregados 50 µl de solução de nitrato de amônio 6 mol l<sup>-1</sup> e, como solução absorvedora, 6 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado. Após a decomposição das amostras foram determinados Al, Fe, Mn, Sr e Zn por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

Recentemente, trabalhos sobre a decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas têm sido publicados, mostrando sua aplicabilidade para amostras que não são facilmente decompostas por técnicas convencionais.<sup>7,39</sup>

## 2.5. Utilização de tubos aquecidos para determinações por F AAS

O atomizador mais comumente empregado em espectrometria de absorção atômica é a chama, devido ao baixo custo relativo, robustez e por apresentar, de um modo geral, menos problemas associados a interferências com relação às demais técnicas envolvendo espectrometria de absorção atômica (AAS).<sup>108</sup> A desvantagem da F AAS, se comparada às outras técnicas de espectrometria de absorção atômica, é a sua baixa sensibilidade. Isto se deve à diluição da nuvem atômica pelos gases que compõem a chama, causando dispersão dos átomos na região do feixe óptico, além da baixa eficiência do processo de nebulização

---

<sup>7</sup> BARIN, J. S., FLORES, E. M. M., KNAPP, G., Nova Science Publishers, Hauppauge, 2006.

<sup>39</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi:10.1016/j.sab.2007.04.018.

<sup>73</sup> MESKO, M. F. *et al.*, *Microchem. J.* 82 (2006) 183-188.

<sup>76</sup> MORAES, D. P. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi:10.1016/j.sab.2007.03.011.

<sup>108</sup> WELZ, B., SPERLING, M., Weinheim: Wiley-VHC, 1999. 941p.

pneumática da amostra líquida.<sup>71</sup> Desta forma, a aplicação da F AAS tem sido restrita para a determinação de elementos em concentrações relativamente elevadas e sistemas baseados em fornos de grafite têm sido usado quando são necessários melhores limites de detecção e maior sensibilidade.<sup>16,46</sup> Sob este aspecto, um sistema de introdução de amostra que seja de fácil manuseio, versátil e que ofereça a possibilidade de se atingir baixos limites de detecção é sempre preferido.

Em função da F AAS ser uma técnica amplamente disponível, alguns esforços no sentido de melhorar os limites de detecção tem sido desenvolvidos.<sup>71</sup> Vários estudos sobre a disposição de um tubo aquecido sobre a chama vem demonstrando ser uma boa alternativa, a fim de melhorar a sensibilidade desta técnica. Robinson<sup>96</sup>, em 1962, foi o primeiro a utilizar um tubo sobre a chama. Ele usou um tubo de quartzo com o objetivo de concentrar os analitos no feixe óptico, obtendo melhora no LD em torno de 10 vezes para Pt.

Delves<sup>36</sup> apresentou, em 1970, um sistema para a determinação de elementos de interesse toxicológico e ambiental, em sangue. Este sistema era constituído, basicamente, de um copo de níquel (*Delves cup*), através do qual a amostra era introduzida diretamente na chama. Com o propósito de aumentar a sensibilidade do método, um tubo de níquel (de 100 mm de comprimento e 12,5 mm de diâmetro externo) foi disposto sobre o queimador. O tubo aumentava a densidade atômica do analito no feixe óptico durante a determinação e o copo permitiu a introdução da amostra, sendo este levado até a chama sem a necessidade de utilização do sistema de nebulização pneumático.

No estudo de Delves,<sup>36</sup> amostras de sangue (10 µl) foram colocadas no copo e previamente aquecidas a 140 °C por 30 s, sendo então adicionados 20 µl de peróxido de hidrogênio. A mistura foi aquecida até a secar e então posicionada na chama do espectrômetro para determinação de Pb. A técnica apresentou massa característica ( $m_0$ ) de 0,1 ng e RSD de 5,7 a 15,3% (Figura 1).

---

<sup>16</sup> BERNDT, H., DAVIES, J., *Anal. Chim. Acta* 479 (2003) 215-223.

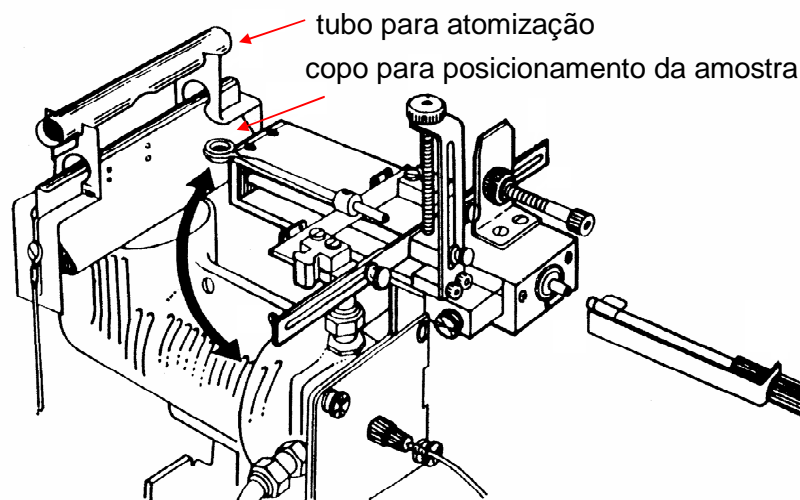
<sup>46</sup> GÁSPAR, A; SZÉLES, E; BERNDT, H., *Anal. Bioanal. Chem.* 372 (2002) 136-140.

<sup>36</sup> DELVES, H. T., *Analyst* 95 (1970) 431-438.

<sup>71</sup> MATUSIEWICZ, H., *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1711-1736.

<sup>96</sup> ROBINSON, J. W., *Anal. Chim. Acta* 27 (1962) 465-469.





**Figura 1.** Sistema “copo de Delves” (adaptado da ref. 36).

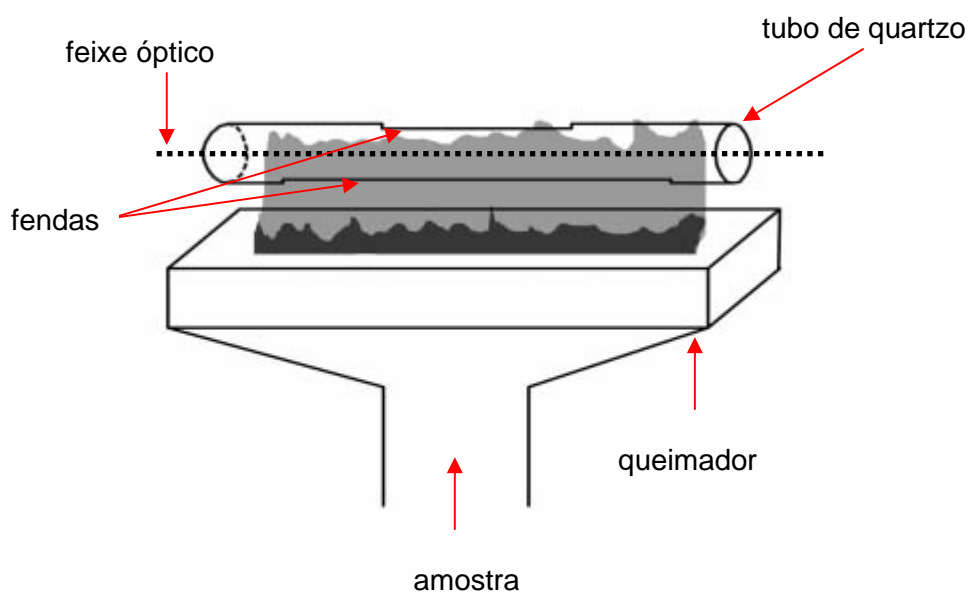
Em 1977, Watling<sup>106</sup> foi o primeiro a utilizar um tubo de quartzo com fenda para o aprisionamento de átomos. O tubo foi aquecido na chama de um espectrômetro de absorção atômica. O sistema foi denominado de *slotted-tube atom trap* (STAT) e possuía duas fendas: uma fenda de entrada, por onde os gases da chama e a amostra nebulizada entravam, e uma fenda de saída, posicionada a um ângulo de 120° em relação à primeira (Figura 2). Com este sistema foram determinados Ag, As, Bi, Cd, Sb, Se e Sn, melhorando os LDs em um fator de 2 a 5 vezes. O tubo de quartzo proposto por Watling<sup>106</sup> foi utilizado por outros pesquisadores e algumas modificações foram propostas para o aprimoramento do sistema.<sup>26,66</sup>

<sup>26</sup> BURNS, D. T. *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 331 (1988) 814-817.

<sup>36</sup> DELVES, H. T., *Analyst* 95 (1970) 431-438.

<sup>66</sup> LAU, C., HELDER, A., STEPHENS, *Can. J. Spectrosc.* 21 (1976) 100-104.

<sup>106</sup> WATLING, R. J., *Water SA* 3 (1977) 218-220.

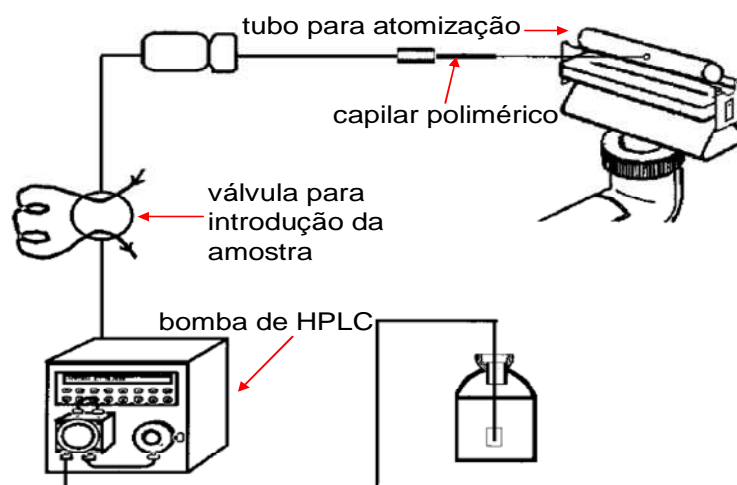


**Figura 2.** Sistema “*slotted-tube atom trap*” (adaptado da ref. 71).

Gáspár e Berndt,<sup>17</sup> em 2000, introduziram o sistema denominado *beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry* (BIFF-AAS). O sistema consiste no emprego de uma bomba de cromatografia à líquido de alta eficiência (HPLC) para transportar as amostras líquidas sob alta pressão até um tubo aquecido posicionado sobre a chama de um espectrômetro de F AAS. Dessa forma, é substituída a nebulização pneumática do sistema convencional e a densidade atômica no feixe óptico é também ampliada em função da maior concentração dos analitos no tubo posicionado na chama do espectrômetro (Figura 3).

<sup>17</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Anal. Chem.* 72 (2000) 240-246.

<sup>71</sup> MATUSIEWICZ, H., *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1711-1736.



**Figura 3.** Sistema BIFF-AAS (adaptado da ref. 17).

No sistema de BIFF-AAS, as amostras bombeadas (aproximadamente 50  $\mu$ l) passam por um capilar polimérico de 50  $\mu$ m de diâmetro interno, distante 10 cm do tubo de atomização. Um jato da amostra líquida é formado, sendo que este se choca com a parede interna do tubo, onde ocorrem os processos de vaporização/nebulização e atomização. Em comparação à técnica convencional de F AAS, melhores LDs foram obtidos na determinação de 17 elementos.<sup>17</sup>

O sistema de nebulização por *thermospray* foi desenvolvido, inicialmente, como ferramenta para acoplar um equipamento de cromatografia à líquido com um equipamento de espectrometria de massa (LC-MS). Também foi usado em equipamentos de ICP OES e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).<sup>16</sup> Como o *thermospray* mostrou-se uma boa alternativa aos sistemas convencionais de introdução de amostra, Berndt,<sup>18</sup> propôs um outro sistema conhecido como TS-FF-AAS (*thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*) mostrada na Figura 4.<sup>60</sup>

<sup>16</sup> BERNDT, H., DAVIES, J., *Anal. Chim. Acta* 479 (2003) 215-223.

<sup>17</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Anal. Chem.* 72 (2000) 240-246.

<sup>18</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 587-597.

<sup>60</sup> KOROPCHAK, J. A., VEBER, M., *Crit. Rev. Anal. Chem.* 23 (1992) 113-141.

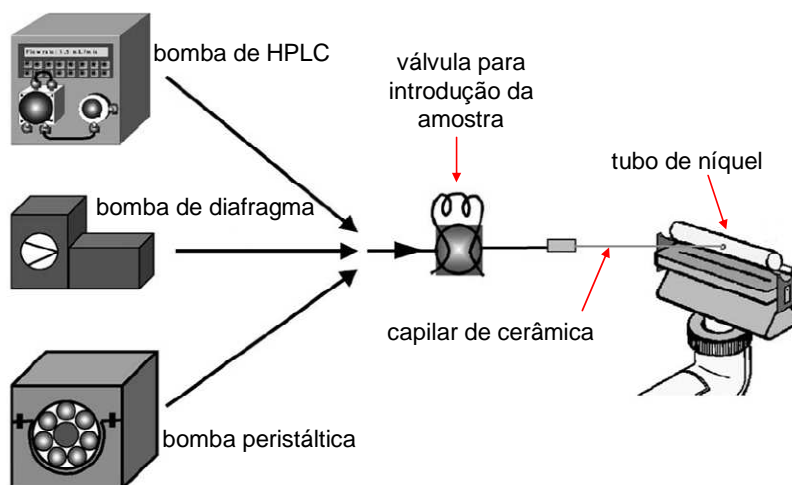


Figura 4. Sistema TS-FF-AAS (adaptado da ref. 16)

Nesta técnica, um capilar de cerâmica com diâmetro interno de 50  $\mu\text{m}$  e comprimento de 15 cm é introduzido em um tubo posicionado sobre a chama do espectrômetro. Volumes discretos de amostra (aproximadamente 10  $\mu\text{l}$ ) são introduzidos para a obtenção de um sinal transiente. Os autores verificaram que o aerossol térmico é formado já na extremidade do capilar de cerâmica (aquecido através do contato com o tubo de atomização). Para Cd, Cu, Hg, Pb e Tl, o LD foi entre 14 e 67 vezes melhor, em comparação a F AAS convencional.<sup>16,18</sup>

Uma das vantagens da TS-FF-AAS consiste no fato deste dispositivo de possibilitar a introdução de 100% da amostra no atomizador. Além disso, requer menores volumes de amostra em relação a F AAS convencional. Este sistema agrega, ainda, a vantagem de proporcionar simplicidade e baixo custo, podendo ser útil em análises de rotina. Vários trabalhos foram feitos com esse sistema para diferentes tipos de amostras.<sup>21,48,54,80,81,93,115</sup>

<sup>16</sup> BERNDT, H., DAVIES, J., *Anal. Chim. Acta* 479 (2003) 215-223.

<sup>18</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 587-597.

<sup>21</sup> BRANCALION, M. L., Dissertação de Mestrado, UNICAMP, Campinas/SP, 2006.

<sup>48</sup> GONZÁLEZ, E., AHUMADA, R., MEDINA, V., *Quím. Nova* 27 (2004) 873-877.

<sup>54</sup> IVANOVA, E., BERNDT, H., PULVERMACHER, E., *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 1507-1509.

<sup>80</sup> NASCENTES, C. C. *et al.*, *Talanta* 64 (2004) 912-917.

<sup>81</sup> NASCENTES, C. C. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 749-753.

<sup>93</sup> PEREIRA, M. G. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 59 (2004) 515-521.

<sup>115</sup> ZHANG, X. *et al.*, *Microchem. J.* 66 (2000) 17-53.

## 2.6. Preparo de amostras para espectrometria de absorção atômica com amostragem de sólidos (SS-AAS)

A minimização ou ausência da etapa de decomposição da amostra é uma das principais vantagens da análise de sólidos, em vista das dificuldades relacionadas a esta etapa que podem levar a erros, geralmente sistemáticos. Porém, na análise de amostras sólidas também são necessários alguns procedimentos de pré-tratamento, dependendo da amostra. Estes tratamentos geralmente são físicos, tais como: secagem, cominuição, peneiramento e pesagem.<sup>66</sup> Fluidos biológicos, também podem ser analisados por SS-AAS transformando-os em sólidos por liofilização ou secagem, (p.ex.).<sup>64</sup>

A liofilização é um dos processos mais utilizados para a preservação de amostras biológicas, sendo empregada principalmente, em laboratórios clínicos. Este processo é definido como um processo de estabilização no qual a amostra, inicialmente é congelada, e a fase líquida (geralmente água) é reduzida por sublimação e dessorção até níveis que inibam reações químicas ou atividades biológicas na amostra.<sup>52</sup> Através da remoção da água, ocorre uma redução de volume inicial da amostra tendo, conseqüentemente, um efeito de concentração dos analitos. A liofilização pode ser otimizada, em função de algumas condições de operação, tais como: temperatura, pH e tempo de operação.<sup>68</sup>

A diminuição do diâmetro das partículas através do processo de moagem tem por objetivo melhorar a homogeneidade da amostra.<sup>61,69</sup> Dois procedimentos para análise por SS-AAS são, geralmente, empregados: a amostragem direta de sólidos e a análise de suspensões. A amostragem direta de sólidos foi primeiramente empregada, utilizando um sistema de atomização comercial, em 1971. A análise de suspensões alia as vantagens da análise por sólidos com a possibilidade de utilização do sistema convencional de introdução de amostras líquidas. Os problemas associados ao desenvolvimento de atomizadores para

---

<sup>52</sup> HAN. Y. *et al.*, *Criobiology* 51 (2005) 152-164.

<sup>61</sup> KURFÜRST, U., *Solid sample analysis*, Berlin: Springer, 1998. 423p.

<sup>64</sup> LANGMYHR, F. J., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 654-656.

<sup>68</sup> LUQUE DE CASTRO, M. D., SILVA, M. P., *Trends Anal. Chem.* 16 (1997) 16-24.

<sup>69</sup> MAGALHÃES, C. E. C., ARRUDA, M. A. Z., *Quím. Nova* 21 (1998) 459-466.

amostragem direta de sólidos, a heterogeneidade das amostras, a não uniforme distribuição dos analitos e o elevado sinal de fundo verificado naquela época, fizeram com que, a partir de 1974, os estudos fossem direcionados para análise de suspensões. Nestes estudos, uma massa de material relativamente elevada pode ser utilizada, sendo a necessidade de se manter a suspensão homogênea e estável durante a análise o maior desafio neste procedimento.<sup>107</sup>

Por outro lado, a análise de suspensões pode oferecer algumas desvantagens que não ocorrem empregando a amostragem direta de sólidos, como os problemas associados à sedimentação do material de análise e a distribuição do analito entre as duas fases.<sup>104</sup>

## 2.7. Incertezas nas determinações por SS-AAS

Vários fatores são responsáveis pela variação dos resultados, como: pesagem inadequada, condições de trabalho, variação no posicionamento da amostra no interior do sistema de atomização, efeito da matriz da amostra.<sup>105</sup> No entanto, a imprecisão ocorre, segundo Belarra *et al.*<sup>12</sup>, principalmente devido aos problemas de homogeneidade da amostra, sendo mais crítica em procedimentos que utilizam massas pequenas de amostra (0,5 a 2 mg), a ponto de tornar irrelevante a influência dos demais fatores citados anteriormente.

A incerteza dos resultados obtidos é uma das principais limitações da SS-AAS. Isto pode ser verificado, principalmente, pela baixa precisão dos resultados, apresentando tipicamente, valores de RSD em torno de 10%<sup>27, 113</sup> e dependendo das características da amostra, as variações podem chegar a 30%<sup>63</sup>

<sup>12</sup> BELARRA, M. A. *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

<sup>27</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66-71.

<sup>63</sup> LANGMYHR, F. J., *Analyst* 104 (1979) 993-1015.

<sup>104</sup> VALE, M. G. R. *et al.*, *Appl. Spect. Reviews* 41 (2006) 377-400.

<sup>105</sup> VANHAECKE, F. *et al.*, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4310-4316.

<sup>107</sup> WELZ, B., *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999) 2081-2094.

<sup>113</sup> ZEISLER, R., *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 376-379.

ou até mesmo 40%.<sup>11,12</sup>

Além disso, nem sempre estes problemas são solucionados pela diminuição do diâmetro das partículas (cominuição). Entretanto, o aumento do número de replicatas pode ajudar a reduzir estas incertezas. Estudos descrevem que, para algumas amostras, o aumento no número de replicatas de 20 para 60 pode reduzir pela metade os valores de RSD.<sup>12</sup> Contudo, cabe ressaltar que a SS-AAS não permite a avaliação de repetibilidade do mesmo modo que para soluções, pois a cada determinação, deve-se fazer uma nova pesagem de amostra.

## 2.8. Calibração

A calibração com soluções de referência seria o procedimento mais adequado da SS-AAS para análise de sólidos e suspensões, devido a maior homogeneidade, facilidade de aquisição e preparo.

Porém, a principal dificuldade se encontra na seleção de uma técnica de calibração adequada, uma vez que, os processos de vaporização e atomização dos analitos podem ser diferentes a partir da amostra sólida e das soluções de referência, devido à influência da matriz da amostra sobre o sinal de absorção atômica.<sup>61,89</sup> Desta forma, o sinal de absorção atômica em área de pico ao invés de altura é recomendado para compensar variações no perfil do sinal de absorvância em função das características da matriz.<sup>61,63,105</sup>

Também, pode-se fazer a calibração com a técnica de adição de analito que, baseia-se na adição de diferentes concentrações da solução de referência sobre massas iguais da amostra em análise. Além disso, pode se fazer a adição da solução de referência em diferentes massas de amostras ou a variação de

---

<sup>11</sup> BELARRA, M. A., RESANO, M., CASTILLO, J. R., *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 489-494.

<sup>12</sup> BELARRA, M. A. *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

<sup>61</sup> KURFÜRST, U., Berlin: Springer, 1998. 423p.

<sup>63</sup> LANGMYHR, F. J., *Analyst* 104 (1979) 993-1015.

<sup>89</sup> NOWKA, R., MÜLLER, H., *Fresenius J. Anal. Chem.* 359 (1997) 123-137.

<sup>105</sup> VANHAECKE, F. *et al.*, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4310-4316.

ambos.<sup>15</sup> Porém, a calibração por adição de analito é geralmente demorada, apresentando uma baixa precisão dos resultados.

Outra maneira de calibração para amostras sólidas é usando materiais sólidos certificados. Estes materiais deveriam possuir, idealmente, a composição e concentrações de analitos similares ao material em análise.<sup>15,61,108</sup> Porém, seu custo ainda é relativamente elevado, o que torna a calibração, usando estes materiais, pouco viável.<sup>61</sup>

Quando não é possível adquirir um material sólido certificado, pode-se fazer um material sólido sintético, como p.ex. a grafite ou a sílica.<sup>13,63,89</sup> Porém, problemas com contaminações e heterogeneidade destes materiais podem ocorrer.<sup>45</sup>

## 2.9. Sistemas de atomização em chama para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica

Os primeiros trabalhos desenvolvidos em espectrometria de absorção atômica com chama para análise de amostras sólidas (SS-F AAS) foram propostos com o intuito de vaporizar separadamente a amostra para que, somente os gases, vapores ou aerossóis fossem atomizados nos sistemas de GF AAS e F AAS. Em 1959, L'vov<sup>62</sup> desenvolveu um atomizador chamado de "*graphite cuvette*". O sistema consistia na aplicação de uma corrente contínua sobre um eletrodo de grafite contendo a amostra, vaporizando-a para então ser atomizada em um sistema de GF AAS. Mais tarde, em 1969, um eletrodo de grafite contendo a amostra, foi posicionado sob um queimador de Meker para

<sup>13</sup> BENDICHO, C., LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

<sup>15</sup> BERGLUND, M., BAXTER, D. C., *Spectrochim. Acta* 47 (1992) 1567-1586.

<sup>45</sup> FLÓRIÁN, K. *et al.*, *Microchem. J.* 54 (1996) 375-383.

<sup>61</sup> KURFÜRST, U., Berlin: Springer, 1998. 423p.

<sup>62</sup> L'VOV, B. V., *Talanta* 23 (1976) 109-118.

<sup>63</sup> LANGMYHR, F. J., *Analyst* 104 (1979) 993-1015.

<sup>89</sup> NOWKA, R., MÜLLER, H., *Fresenius J. Anal. Chem.* 359 (1997) 123-137.

<sup>108</sup> WELZ, B., SPERLING, M., Weinheim: Wiley-VHC, 1999. 941p.



análise por F AAS, onde a amostra, vaporizada, era imediatamente atomizada pela chama, sendo o sistema chamado de “*furnace-in-flame atomizer*”. Ambas as técnicas foram primeiramente aplicadas para microanálise de resíduo seco de amostras líquidas e, após, modificações foram propostas para análise de suspensões.

Kashiki e Oshima<sup>57</sup> propuseram, em 1970, a determinação de cobalto e molibdênio em catalisadores à base de alumina. Este trabalho foi feito introduzindo as amostras na forma de suspensão no nebulizador pneumático do equipamento de absorção atômica com chama. O material de análise foi macerado, peneirado e uma suspensão com metanol foi preparada, a qual foi mantida sob agitação com o auxílio de um vibrador eletromagnético enquanto era nebulizada. O método mostrou-se adequado para análise de catalisadores a base de alumina e os LDs foram de 6 e 12 mg l<sup>-1</sup> para Co e Mo, respectivamente. A concordância entre os valores certificados e determinados foi entre 92 e 99%.

A introdução de amostras sólidas na chama, diretamente no fluxo de gás do queimador, foi proposta por Coudert e Vergnaud<sup>33</sup> para a determinação de paládio em catalisadores. O material de análise foi misturado com carbonato de cálcio de alta pureza, numa proporção de 1:100, e depois a mistura era introduzida na base do queimador por meio de uma haste, controlada por um motor elétrico, sendo levada à chama pela corrente de gás.

Um sistema denominado “*iron screw rod technique*”, foi desenvolvido por Govindaraju *et al.*,<sup>50</sup> em 1971, e foi aplicado para determinação de rubídio em rochas. Em estudo posterior, com este mesmo sistema, foi feita a determinação de rubídio, lítio e cério em rocha. Neste estudo, uma haste de ferro de 3 mm de diâmetro foi impregnada com partículas da amostra, e, dependendo das propriedades físicas, a quantidade de amostra depositada na haste variava de 45 a 80 mg. Com uma alavanca manual, a haste de ferro foi depositada entre o sistema de atomização (chama ar e acetileno) e o feixe óptico de um espectrômetro de absorção atômica. Para evitar interferências por ionização na

---

<sup>33</sup> COUDERT, M. A., VERGNAUD, J. M., *Anal. Chem.* 42 (1970) 1303-1304.

<sup>50</sup> GOVINDARAJU, K., MEVELLE, G., CHOUARD, C., *At. Absorp. Newsl.* 8 (1971) 131-137.

<sup>57</sup> KASHIKI, M., OSHIMA, S., *Anal. Chim. Acta* 51 (1970) 387-392.

chama, na determinação de rubídio, céσιο e lítio foi adicionado carbonato de sódio ou cloreto de sódio.<sup>49</sup>

Kántor *et al.*,<sup>56</sup> utilizaram um sistema de ablação a *laser* para vaporização de amostras sólidas, associado ao sistema de atomização convencional da técnica de F AAS para a determinação de metais. Foi aplicado um laser de neodímio, ítrio e alumínio (do inglês: *neodymium-doped yttrium aluminium garnet*, Nd:YAIG) sobre a amostra, e o vapor gerado foi recolhido numa câmara de vidro. Após, estes vapores foram direcionados da câmara de nebulização até o atomizador. Determinaram Fe em ligas de níquel, obtendo um RSD de 7%. A técnica também foi aplicada para a determinação do Na, Fe, Cd, Cu e Zn em soluções, sendo obtido LDs de 80 mg kg<sup>-1</sup> para Na, 100 mg kg<sup>-1</sup> para Cd e Zn e 400 mg kg<sup>-1</sup> para Cu.

Posteriormente, Kántor *et al.*,<sup>55</sup> aplicaram a nebulização térmica para vaporizar amostras de Cu utilizadas na fabricação de dispositivos eletrônicos. O sistema compreendia a vaporização da amostra empregando um arco elétrico entre eletrodos de grafite e foram determinados Cd, Pb e Zn por SS-F AAS. Neste trabalho, houve uma melhora em torno de duas ordens de magnitude no limite de detecção em relação a F AAS convencional.

Berndt,<sup>19</sup> utilizou lâmpadas de radiação no infravermelho (150 W) para vaporização da amostra para a determinação de elementos voláteis. Amostras biológicas, até 10 mg, foram posicionadas numa plataforma de grafite e os vapores formados foram carregados até o sistema de nebulização do espectrômetro com auxílio de um fluxo de ar. Na determinação de chumbo em amostras biológicas, foi obtido um limite de detecção de 20 ng e RSD de 3% (Figura 5).

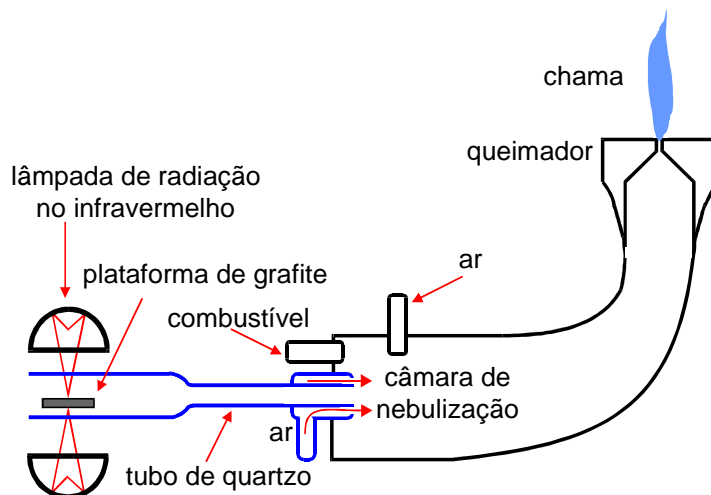
---

<sup>19</sup> BERNDT, H., *Spectrochim. Acta Part B* 39 (1984) 1121-1128.

<sup>49</sup> GOVINDARAJU, K., *et al.*, *At. Absorp. Newsl.* 4 (1973) 73-76.

<sup>55</sup> KÁNTOR, T. *et al.*, *Anal. Chim. Acta* 102 (1978) 15-23.

<sup>56</sup> KÁNTOR, T. *et al.*, *Talanta* 23 (1976) 585-586.



**Figura 5.** Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização de amostras sólidas (adaptado da ref. 19)

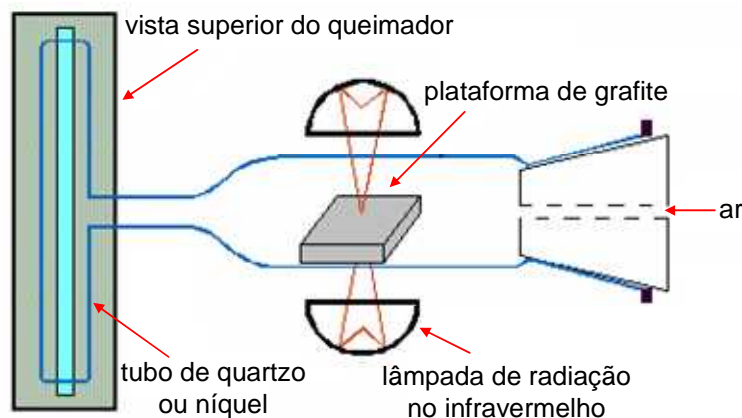
Mais tarde, este sistema foi usado, com algumas adaptações, para a determinação de Pb, Cd, Zn e Cu em amostras biológicas. Três lâmpadas de infravermelho foram focalizadas sobre uma plataforma de grafite que continha a amostra. Através de um fluxo de ar, a amostra foi carregada até o sistema de nebulização pneumática do espectrômetro. Alíquotas de 0,1 a 10 mg de amostra puderam ser introduzidas no sistema. Assim, a sensibilidade obtida melhorou em cerca de uma ordem de grandeza, em comparação a F AAS convencional.<sup>27</sup>

Com relação ao trabalho anterior, foi obtida maior sensibilidade quando, no mesmo sistema, houve a substituição do nebulizador pneumático pela introdução direta da amostra em um tubo de níquel e/ou quartzo posicionado sobre o queimador, aquecido eletricamente ou pela chama do espectrômetro (Figura 6). Um estudo da vazão de ar também foi feita e, segundo os autores, um aumento na vazão do gás de carregamento aumentava a eficiência na combustão das amostras, mas diminuía a temperatura do tubo de atomização e diluía a nuvem atômica, prejudicando a sensibilidade do método.<sup>28</sup>

<sup>19</sup> BERNDT, H., *Spectrochim. Acta Part B* 39 (1984) 1121-1128.

<sup>27</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66-71.

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.



**Figura 6.** Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras e atomização em cela posicionada na chama do queimador (adaptado da ref. 28).

A massa de amostra utilizada neste sistema foi de 0,1 a 2 mg, obtendo-se massas características de 260, 6, 450, 650, 350, 360 e 33 pg para Bi, Cd, Cu, Hg, Pb, Tl e Zn, respectivamente. Os valores de sinal de fundo, em altura de pico, foram de 0,06 para Cd e 0,075 para Pb, para a combustão de 0,7 e 0,5 mg de tecido vegetal, respectivamente.<sup>28</sup>

Magalhães *et al.*<sup>70</sup> utilizaram 3 lâmpadas de infravermelho (150 W cada) para vaporizar amostras secas e moídas (2 a 60 mg), que foram colocadas em um sistema de quartzo para determinação de mercúrio em sedimento de rio. Após a incidência da radiação infravermelha, um fluxo de ar carregou os vapores, que foram direcionados a uma pré-coluna de amalgamação, posicionada antes do sistema de detecção. Para reter interferentes da matriz da amostra foi utilizada uma pré-coluna de vidro, preenchida com alumina, sílica e óxido cúprico. O mercúrio amalgamado, após dessorção térmica, foi carregado até o sistema de detecção. O LD foi de 0,26 ng e o RSD foi de 7% para 4 mg de amostra.

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.

<sup>70</sup> MAGALHÃES, C. E. C. *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 1231-1234.

Diferentes dispositivos para vaporização de amostras sólidas, direta ou indiretamente no sistema de atomização por F AAS foram usados por Bezur e Varga.<sup>22</sup> Os sistemas de vaporização eram compostos por um copo ou tubo de grafite ou quartzo, com controle de temperatura por radiação infravermelho, podendo ser exposto à atmosfera de gases como, p.ex. ar e acetileno ou atmosfera inerte. Quando associado diretamente na chama do espectrômetro, foi denominado de *direct thermo-AAS* e caracterizava-se por não haver interface entre o sistema de vaporização e atomização da amostra. Quando associado indiretamente, o sistema foi designado de *indirect thermo-AAS*. Neste caso, a interface entre o sistema de vaporização e atomização estava à temperatura ambiente e os vapores condensados, na forma de um aerossol seco, foram transferidos até a câmara de nebulização e, após, para a chama do espectrômetro. O copo ou tubo de ambos os sistemas eram aquecidos eletricamente, por meio de eletrodos de grafite, e possuíam um sistema de resfriamento com água. O comportamento térmico do Cd em compostos como cloreto, nitrato, carbonato e sulfato foi avaliado. No sistema *indirect thermo-AAS* foi encontrada uma sensibilidade 20 vezes inferior àquela apresentada pelo sistema anterior. Esta menor sensibilidade foi atribuída à perda do analito durante o transporte dos vapores da amostra ou à diluição destes pelo gás de arraste.

Alvarado e Jaffé<sup>3</sup>, em 1998, descreveram um método usando um tubo de grafite móvel posicionado sobre a chama ar e acetileno, como sistema de atomização, para a determinação de chumbo em amostras de sedimento. Este sistema foi aplicado inicialmente à análise das amostras sólidas após decomposição ácida, encontrando uma sensibilidade 40 vezes maior em relação a F AAS convencional. Devido à dificuldade encontrada para decompor completamente estas amostras, autores, em um outro trabalho, utilizaram este sistema para a análise de suspensões. A amostra, em suspensão, era colocada por uma das extremidades do tubo que era posicionado na chama de ar e acetileno. A chama mais rica em combustível proporcionou melhores resultados em termos de sensibilidade e reprodutibilidade. Os autores atribuíram este fato, não somente a um incremento em temperatura, mas também devido à parte da

<sup>3</sup> ALVARADO, J., JAFFÉ, R., *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1297-1300.

<sup>22</sup> BEZUR, L., VARGA, J., *Microchem. J.* 51 (1995) 319-330.

chama entrar pelas extremidades do tubo, proporcionando um ambiente de atomização mais favorável. Os resultados apresentaram valores de RSD que variaram de 8,5 a 13%.<sup>4</sup>

Em 2001, Flores *et al.*<sup>40</sup> propuseram um dispositivo para introdução de amostras sólidas em um espectrômetro de F AAS. Amostras de fígado bovino, 0,05 a 1 mg, foram pesadas em um recipiente de polietileno e transferidas para uma câmara de vidro. A amostra foi carregada com um fluxo de ar até uma cela de quartzo com uma fenda na parte superior, posicionada na chama do queimador, logo abaixo do feixe óptico. Assim, a vaporização e a atomização do analito ocorrem na chama. A massa característica foi de 1,5 ng para Cu e RSD de aproximadamente 5% foi obtido nas determinações. O mesmo dispositivo foi utilizado para determinar Cd em amostras biológicas e sedimentos.<sup>41</sup> Amostras biológicas de até 2 mg foram usadas e a massa característica obtida foi de 0,29 ng e RSD entre 3,8 e 6,7%, sendo que os valores estavam de acordo com os obtidos pela análise das amostras digeridas por GF AAS. Para as amostras de sedimentos, até 1,5 mg puderam ser introduzidas no sistema e a massa característica obtida foi de 0,2 ng. A concordância com valores de CRM ou com os valores obtidos por GF AAS, foi de 97 a 103 %.

Com o intuito de usar maiores massas de amostras, este sistema foi modificado (Figura 7). O sistema proposto foi confeccionado em quartzo e dois procedimentos de introdução das amostras foram investigados: o encapsulamento das amostras em papel e a produção de comprimidos das amostras utilizando ágar como aglutinante. Foram feitas determinações de cádmio em amostras biológicas e os valores foram comparados aos obtidos por GF AAS. Os melhores resultados foram obtidos com amostras na forma de comprimidos com ágar, permitindo a introdução de até 21 mg de amostra no sistema. O LQ foi de 37 ng g<sup>-1</sup> para os comprimidos e 750 ng g<sup>-1</sup> para cápsulas. A massa característica foi de 0,34 e 0,19 ng para os procedimentos de encapsulamento com papel e comprimidos de amostra com ágar, respectivamente.<sup>31,32</sup>

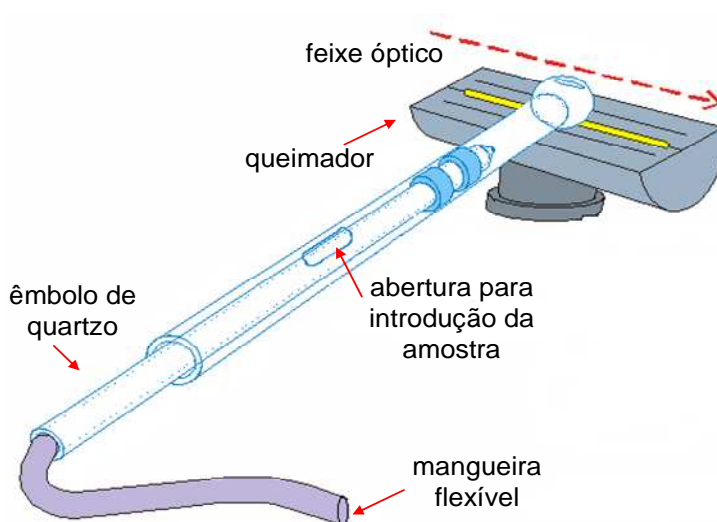
<sup>4</sup> ALVARADO, J., JAFFÉ, R., *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 37-40.

<sup>31</sup> COSTA, A. B. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 583-588.

<sup>32</sup> COSTA, A. B., Tese de Doutorado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2004.

<sup>40</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1875-1882.

<sup>41</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2187-193.



**Figura 7.** Sistema para SS-F AAS utilizando encapsulamento da amostra em papel ou comprimidos de amostra com ágar, com vaporização e atomização na chama do queimador (adaptado da ref. 32).

Em 2004, Flores *et al.*,<sup>44</sup> determinaram cobre em plantas medicinais, usando o sistema anterior. Amostras entre 0,05 e 1,5 mg foram pesadas e introduzidas na cela de quartzo. A calibração foi feita usando material certificado de amostras vegetais. A massa característica encontrada foi de 0,8 ng de Cu e o LD foi de 1,2 ng. Os resultados foram concordantes comparados com determinação por F AAS convencional fazendo a digestão das amostras.

Saidelles<sup>98</sup> determinou Cd, Cu e Pb em plantas medicinais por SS-F AAS, utilizando o sistema proposto por Costa<sup>32</sup>. As amostras foram misturadas com grafite, prensadas na forma de comprimidos e, após, colocadas no sistema de introdução de amostras sólidas no atomizador (com chama ar e acetileno). Oxigênio foi utilizado como auxiliar de combustão e a calibração foi realizada através da queima de comprimidos de grafite com adição de solução de referência (para Cd e Cu) ou através da queima de comprimidos de grafite com CRM sólido (para Pb). Foi possível o emprego de até 25 mg de amostra na

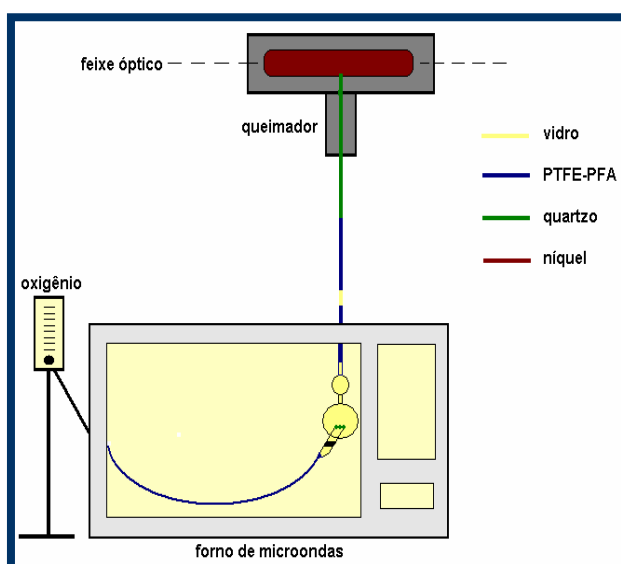
<sup>32</sup> COSTA, A. B., Tese de Doutorado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2004.

<sup>44</sup> FLORES, E. M. M. *et al.*, *Microchem. J.* 77 (2004) 113-118.

<sup>98</sup> SAIDELLES, A. P. F., Tese de Doutorado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2005.

produção dos comprimidos utilizados no sistema, resultando em um LQ de 0,03, 0,52 e 0,34  $\mu\text{g g}^{-1}$  e massas características de 0,05, 0,9 e 1 ng para cádmio, cobre e chumbo, respectivamente.

Em 2007, Bartz<sup>9</sup> propôs um sistema para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama, após combustão iniciada por microondas (MIC-FF-AAS). Determinou cádmio e chumbo em amostras de vegetais. As amostras, na forma de comprimidos, foram colocadas sobre um papel de filtro posicionado em um suporte de quartzo. O suporte foi colocado no interior de uma câmara de vidro adaptada no interior de um forno de microondas. O forno de microondas foi modificado para possibilitar a entrada de oxigênio e a saída dos produtos da combustão. Uma solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) foi empregada como iniciador de combustão e  $\text{O}_2$  foi utilizado para a combustão e para o transporte dos vapores formados até o sistema de atomização. A atomização foi feita em um tubo metálico posicionado na chama de um espectrômetro de absorção atômica (Figura 8). O sistema permitiu a introdução de até 60 mg de amostra e LD de 2,7 e 240  $\text{ng g}^{-1}$ , para Cd e Pb, respectivamente, aumentando, assim, o potencial de aplicação da técnica de AAS para diversas amostras de natureza orgânica.



**Figura 8.** Sistema para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama após combustão iniciada por microondas (adaptado da ref. 9).

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.



### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

---

#### 3.1. Instrumentação

Para a etapa de combustão das amostras, foi utilizado um forno de microondas doméstico Panasonic<sup>®</sup> (modelo NN-S52 B, [www.panasonic.com.br](http://www.panasonic.com.br), Brasil) com frequência de operação de 2450 MHz, consumo de energia de 1450 W, potência útil de 900 W e capacidade para 28 l.

Para a remoção da água do sangue foi utilizado um liofilizador (Terroni Fauvel – LH 2000/3, Brasil) e uma estufa (Nova Ética - 400/2ND, <http://www.novaetica.com.br>, Brasil). Para a pesagem da amostra para posterior confecção dos comprimidos de sangue liofilizado foi utilizada uma balança eletromecânica (Sartorius-M2P, [www.sartorius.com](http://www.sartorius.com), Alemanha), com resolução de 1 µg e tara máxima de 2 g e uma prensa de aço (Specac - Hydraulic Press 15 Ton, Inglaterra).

As determinações de Cd e Pb nas amostras sólidas foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica Varian<sup>®</sup> (modelo SpectrAA 600, [www.varianinc.com](http://www.varianinc.com), Austrália) equipado com queimador convencional (fenda de 10 cm de comprimento) para chama de ar e acetileno (acetileno comercial, mín. 99,5% de pureza, White Martins, Brasil). Lâmpadas de cátodo oco foram empregadas como fonte de radiação e uma lâmpada de deutério para a correção de fundo. Os comprimentos de onda selecionados foram de 228,8 e de 283,3 nm para Cd e Pb, respectivamente. A largura da fenda foi de 0,5 nm para ambos elementos e a corrente da lâmpada foi de 4 mA para Cd e de 10 mA para Pb. As medições foram feitas em absorbância integrada, por 30 s, e não foi empregado nenhum algoritmo para alisamento dos sinais.

Para os estudos de otimização do sistema, Cd e Pb de uma amostra de sangue liofilizado foram determinados por ICP-MS (PerkinElmer-SCIEX - modelo ELAN<sup>®</sup> DRC II, <http://www.perkinelmer.com>, EUA), após decomposição por via úmida em forno de microondas com frascos fechados (Milestone-ETHOS 1, <http://www.milestonesrl.com/index.html>, Itália). O mesmo procedimento foi feito para a determinação destes elementos no papel de filtro.

Para os estudos de calibração do equipamento, usando a grafite, primeiramente, foi necessário, a utilização de um banho de ultra-som (Odontobrás – modelo Ultrasonic Cleaner 1440D – série Evolution, <http://www.odontobras.com>, Brasil) e de uma chapa de aquecimento (Fisatom - modelo 752A – série 596449, <http://www.fisatom.com.br>, Brasil) para a descontaminação da grafite, e usou-se um forno de microondas (Multiwave 3000<sup>®</sup> microwave sample preparation system, <http://www.anton-paar.com>, Áustria) usando o procedimento de combustão iniciada por microondas, para a etapa de decomposição da mesma. A determinação de Cd e Pb na grafite também foi feita por ICP-MS.

### 3.2. Reagentes

A água utilizada foi destilada, deionizada em uma coluna trocadora de íons e purificada em um sistema Milli-Q (Millipore, <http://www.millipore.com>, USA). O ácido nítrico concentrado P.A. (Art. n.º 100452.1000, 65%, 1,14 kg l<sup>-1</sup>, Merck, Alemanha) foi bidestilado abaixo de seu ponto de ebulição em sistema de destilação de quartzo (Milestone, modelo duoPur 2.01E, Itália). Nitrato de amônio de grau P.A. (Merck) foi utilizado como iniciador de combustão (solução 50% m/v, preparada a partir da dissolução do sal em água de Milli-Q).

As soluções de referência de Cd e Pb foram preparadas a partir de solução de referência comercial SCP 33MS (PlasmaCAL, Canadá) e/ou a partir de soluções Titrisol (Merck, Alemanha), em HNO<sub>3</sub> 2% (v/v), de acordo com o emprego para a análise em ICP-MS ou em F AAS, respectivamente. As soluções de referência foram preparadas a partir da diluição da solução estoque com HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v). Oxigênio, com pureza 99,9991% (White Martins, Brasil) foi utilizado para a combustão e transferência dos vapores até o sistema de atomização.

### 3.3. Amostras

Sangue foi adquirido no Banco de Sangue do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Maria – HUSM (Santa Maria - RS), sendo essas amostras provenientes de doadores. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C. Dentre as amostras, uma foi selecionada para a determinação de Cd e Pb por ICP-MS. Como os valores de concentração para esses elementos foram considerados relativamente baixos, para os estudos de otimização do procedimento proposto, a amostra foi enriquecida com Cd e Pb. Um pré-tratamento inicial foi feito, congelando-as por 4 h e liofilizando-as por 12 h. Então, o sangue liofilizado foi homogeneizado em gral de ágata e armazenado em recipiente apropriado. Uma fração desta amostra foi utilizada para a determinação de Cd e Pb por ICP-MS, após decomposição por via úmida.

Também foi utilizada grafite para o processo de combustão (grau espectroscópico, Merck, Alemanha).

Material de referência certificado (fígado e músculo de peixe-cão, DOLT-2) e amostra de fígado de frango foram usados para a determinação de Cd e Pb após a etapa de otimização dos parâmetros instrumentais.

### 3.4. Materiais diversos

Foi utilizado papel filtro CarlSchleicher & Schüll (n.º 589, Alemanha) para envolver os comprimidos, posicionados no suporte dentro da câmara de combustão e para adsorção da solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v), como iniciador de combustão.

Toda a vidraria empregada no laboratório foi lavada por imersão em solução de  $\text{HNO}_3$  10% (m/v), por 24 h, e depois enxaguada com água, imediatamente antes de seu uso.

### 3.5. Sistema para a determinação de Cd e Pb em amostras sólidas por MIC-FF-AAS

Este trabalho baseia-se na utilização de um sistema de combustão, iniciado por radiação microondas, acoplado a um espectrômetro de absorção atômica com tubo aquecido na chama.<sup>9</sup> O sistema de combustão é constituído de uma câmara de combustão feita de dois balões de vidro borossilicato, posicionada no interior de um forno de microondas doméstico. A câmara de combustão e o forno foram adaptados para possibilitar a entrada e saída de oxigênio (Figura 9). A câmara de combustão possibilita o encaixe de um suporte de quartzo desenvolvido para o posicionamento da amostra.

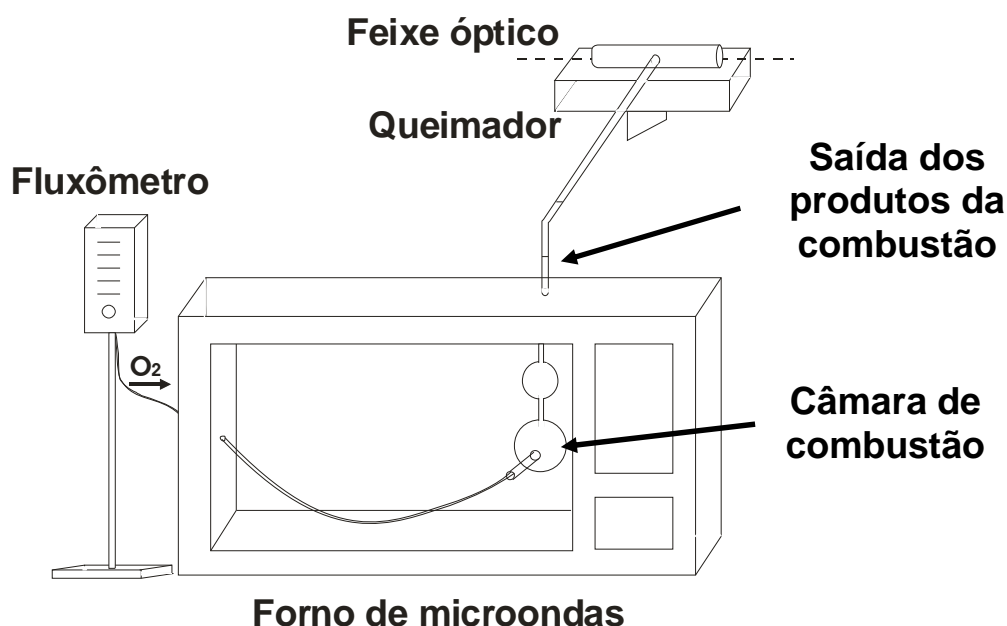
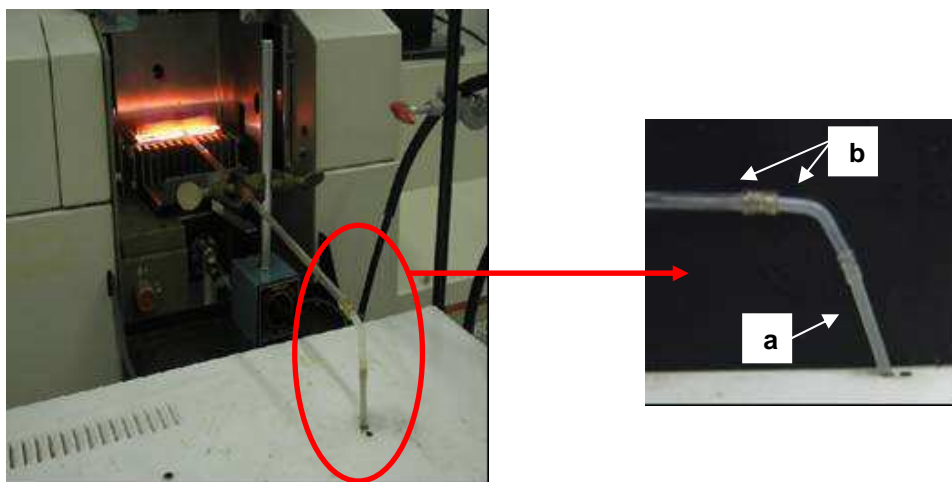


Figura 9. Componentes do sistema de combustão.

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

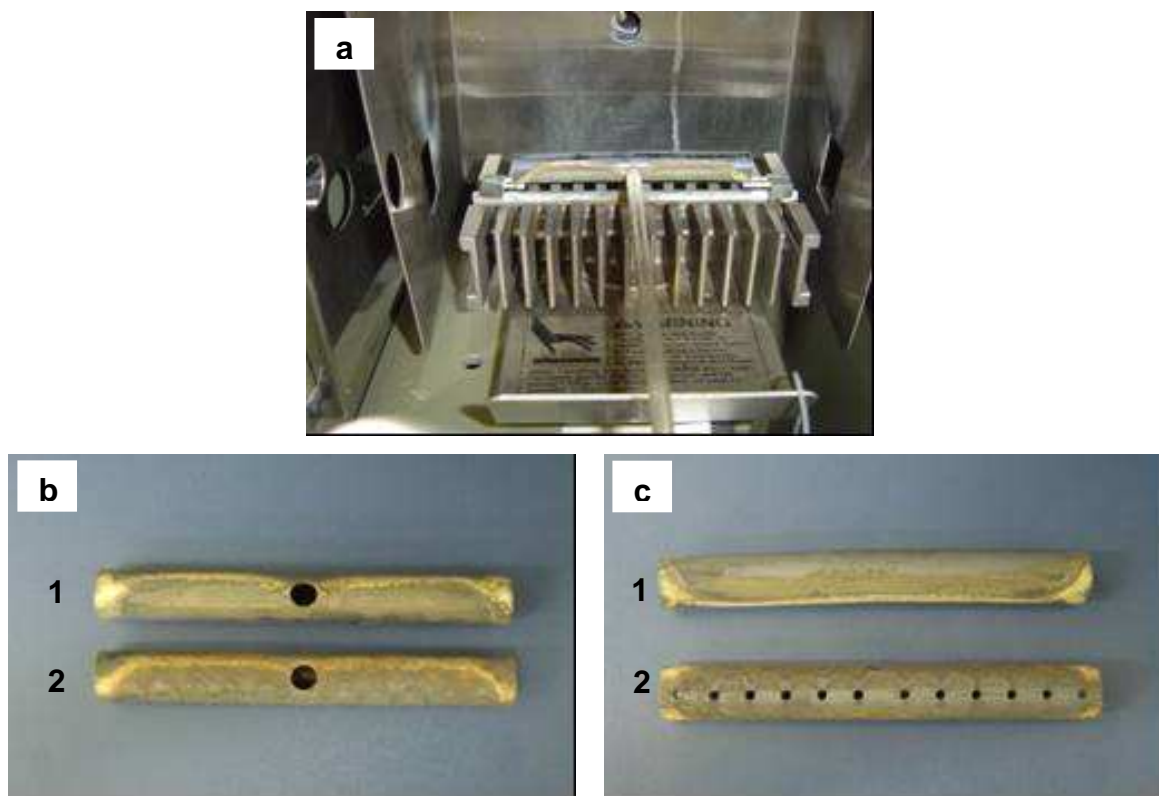
Para o acoplamento do sistema de combustão ao espectrômetro de absorção atômica com chama, tubos de politetrafluoretileno-perfluoroalcóxi (PTFE-PFA) e de quartzo (totalizando 80 cm de comprimento, com 3 cm de diâmetro interno) foram utilizados (Figura 10).



**Figura 10.** Ilustração das conexões para o transporte dos produtos da combustão até o sistema de atomização: (a) tubo de PTFE-PFA e (b) tubos de quartzo.

Para o sistema de atomização, foi empregado um tubo metálico (Inconel<sup>®</sup> 600, Camacam, [www.camacam.com.br](http://www.camacam.com.br), São Paulo), composto por 72% de Ni, 15% de Cr, 8% de Fe, 0,5% de Cu e 0,3% de Ti, com 9 mm de diâmetro interno, 11 mm de diâmetro externo e 100 mm de comprimento, sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica. Para suportar o tubo metálico, foram necessárias modificações na base do queimador. Duas peças de aço-inox (com ajuste de altura) foram fixadas nas extremidades, tendo a finalidade de suportar barras de cerâmica, onde o tubo metálico utilizado foi posicionado (Figura 11a).

Para a determinação de Cd pelo sistema MIC-FF-AAS, o tubo metálico não possuiu nenhuma modificação em sua base. Já para a determinação de Pb, o tubo empregado apresentou 12 orifícios, de 2 mm cada, na sua parte inferior (Figuras 11b e 11c).

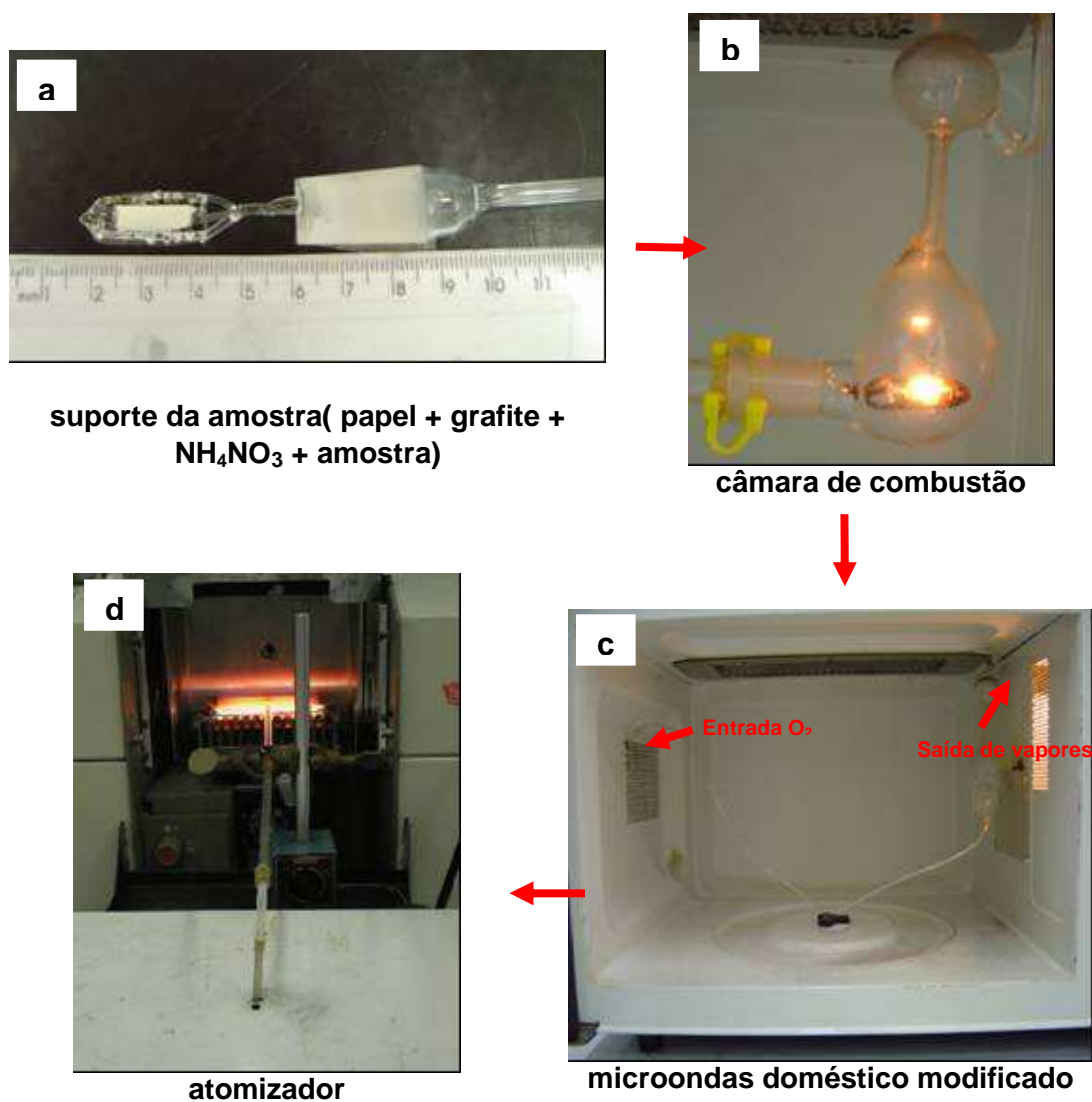


**Figura 11.** Sistema de atomização.(a) posicionamento do tubo metálico no queimador do espectrômetro. Tubos metálicos: (b) vista frontal e (c) vista inferior dos tubos utilizados para as determinações de (1) Cd e (2) Pb.

Como já foi mencionado, este sistema foi utilizado com sucesso para a determinação de Cd e Pb em tecido vegetal.<sup>9</sup> Neste trabalho, o sistema será utilizado para a determinação destes elementos em sangue liofilizado, visto a maior complexibilidade da matriz desta amostra, uma vez que possui proteínas, gorduras, substâncias nitrogenadas, sais inorgânicos, hormônios, vitaminas, entre outros.

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

Na Figura 12 é mostrado um esquema geral do sistema MIC-FF-AAS.



**Figura 12.** Esquema geral do sistema MIC-FF-AAS: (a) suporte da amostra, (b) câmara de combustão, (c) microondas doméstico modificado e (d) atomizador.

### 3.6. Procedimentos utilizados para a determinação de Cd e Pb no sangue liofilizado e materiais usados para a calibração do equipamento

Para a determinação de Cd e Pb de uma amostra de sangue liofilizado, fez-se a decomposição de uma amostra, em frascos de PTFE-PFA de um forno de microondas. O programa de decomposição utilizado é mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Programa de aquecimento utilizado para a decomposição de sangue liofilizado em forno de microondas (800 mg de amostra com 8 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado).

Etapa	Tempo (s)	Temperatura (°C)	Potência (W)
1	5	120	
2	2	120	1000
3	5	180	
4	10	180	

Temperatura máxima: 180 °C, pressão máxima: 30 bar.

Para a determinação de Cd e Pb, por ICP-MS, na amostra de sangue liofilizado, na grafite e no papel filtro foi feita conforme instruções do fabricante.

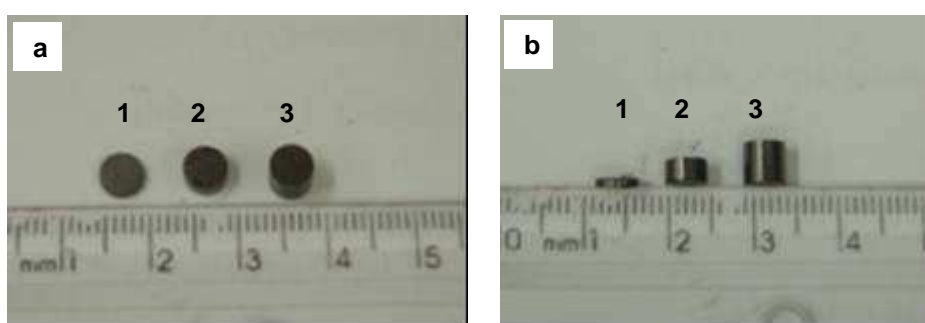
#### 3.6.1 Procedimento de descontaminação da grafite

Para o uso da grafite na etapa de calibração do sistema MIC-FF-AAS foi necessária uma etapa de descontaminação, com a finalidade de reduzir a concentração de Pb que poderia ser uma fonte de contaminação, prejudicando o limite de detecção (LD) para este elemento. Para isso, foram feitos dois procedimentos de descontaminação da grafite: a) imersão em HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) em frasco de polipropileno de 50 ml coberto com um filme plástico e aplicação de banho de ultra-som por 30 minutos, e b) imersão em HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) em béquer coberto com um filme plástico, e aquecimento a 90 °C/3 h sob agitação em chapa de aquecimento. Para ambos os procedimentos, a grafite foi subsequentemente lavada com água purificada e seca em estufa até peso constante.



### 3.7. Preparo dos comprimidos

Foram feitos comprimidos de sangue liofilizado com diferentes massas com o auxílio de uma prensa hidráulica. Também, foram pesadas diferentes proporções de sangue liofilizado e grafite, e após foi feita a homogeneização por 10 minutos em um gral de ágata. Desta mistura foram retiradas diferentes massas para a etapa de prensagem. Na Figura 13 são mostrados os comprimidos de sangue liofilizado com grafite.



**Figura 13.** (a) Vista superior e (b) vista lateral dos comprimidos com 30 mg de grafite e com (1) 3,5 mg, (2) 50 mg e (3) 100 mg de amostra de sangue liofilizado. Todos os comprimidos possuem 5 mm de diâmetro.

Para a verificação da massa de grafite a ser usada para a calibração do equipamento, comprimidos de 10 a 50 mg foram confeccionados. Neste estudo, houve a adição de 10 ng de Cd e 200 ng de Pb na forma de solução, adsorvida nos comprimidos, com posterior combustão destas amostras pelo sistema MIC-FF-AAS.

### 3.8. Procedimento proposto para a determinação de Cd e Pb por MIC-FF-AAS

Para a etapa de calibração foram adicionados, tanto no papel, quanto nos comprimidos de grafite, volumes que variaram de 1 a 10  $\mu\text{l}$  das soluções de referência de Cd ( $1 \text{ mg l}^{-1}$  ou  $5 \text{ mg l}^{-1}$ ) ou Pb ( $50 \text{ mg l}^{-1}$  ou  $100 \text{ mg l}^{-1}$ ). Após, foi

adicionado volumes de 10 a 50  $\mu\text{l}$  de uma solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) sobre o papel filtro, posicionando o suporte de quartzo no interior da câmara de combustão.

Logo após, a válvula do fluxômetro de  $\text{O}_2$  foi aberta e o forno de microondas foi acionado. Quando foi observado o início da combustão (observação visual), foi interrompida a irradiação microondas e o registro do sinal de absorbância foi iniciado simultaneamente com o momento de ignição. Para a combustão das amostras, foram pesados os comprimidos de sangue liofilizado, sendo estes, então, envolvidos pelo papel filtro. A solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) foi adicionada sobre o papel e seguido o mesmo procedimento mencionado anteriormente.

Para os testes posteriores, como a otimização do modelo da câmara, suporte de quartzo para a amostra na combustão, volume de solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v), vazão de oxigênio e estequiometria da chama, a determinação de Cd, 1  $\mu\text{l}$  de uma solução a 5  $\text{mg l}^{-1}$  (correspondendo a 5 ng de Cd) foi adicionado sobre o papel ou sobre o comprimido de grafite. Em seguida, foi adicionada uma solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) no papel contendo os padrões ou no papel que envolvia o comprimido contendo os padrões, posicionando-o sobre o suporte de quartzo, sendo então inserido na câmara de combustão. A radiação microondas foi aplicada até o início da combustão, acompanhando-se as medidas de absorbância. Subsequentemente, comprimidos de sangue liofilizado ou comprimidos de sangue liofilizado com grafite (10 mg de sangue liofilizado, correspondendo a 6,45 ng de Cd) foram posicionados sobre um papel filtro com adição de solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v), sendo feito o mesmo procedimento utilizado para a solução de referência. Para Pb, empregou-se o mesmo procedimento, sendo o volume de solução de referência utilizado de 4  $\mu\text{l}$  de uma solução a 50  $\text{mg l}^{-1}$  (correspondendo a 200 ng de Pb) e a massa de sangue liofilizado com grafite de 10 mg de sangue liofilizado (correspondendo a 193,1 ng de Pb).

### 3.9. Otimização do modelo da câmara de combustão

Para melhorar a eficiência da combustão e do transporte dos produtos da combustão até o sistema de atomização, foram testadas três tipos de câmaras. A primeira foi a câmara utilizada por Bartz<sup>9</sup>, já empregada na combustão de tecido vegetal por MIC-FF-AAS, composta por dois balões unidas por uma conexão de *tygon*; a segunda foi uma câmara cônica com capacidade para 125 ml; e a terceira foi semelhante à primeira câmara (capacidade de 50 ml), porém em formato de peça única.

### 3.10. Otimização do suporte de quartzo utilizado no sistema de combustão

Para a queima dos comprimidos no processo de combustão, foram feitos testes com três tipos de suportes. Foi testado o suporte de quartzo do sistema MIC-FF-AAS utilizado por Bartz<sup>9</sup> e dois suportes com ranhuras menores.

### 3.11. Otimização do volume de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 50% (m/v) para a combustão

Volumes entre 10 e 50  $\mu\text{l}$  de solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) foram testados para o processo de combustão, sendo pipetados sobre o papel de filtro conforme metodologia descrita em “3.8. Procedimento proposto para a determinação de Cd e Pb por MIC-FF-AAS”. É importante ressaltar que a concentração da solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) utilizada foi definida baseando-se em trabalho anterior.<sup>6</sup>

---

<sup>6</sup> BARIN, J. S., Dissertação de Mestrado, PPGCTF, UFSM, Santa Maria/RS, 2003.

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

### **3.12. Otimização da vazão de oxigênio mais adequada para o sistema MIC-FF-AAS**

A vazão de oxigênio foi variada na faixa compreendida entre 0,5 e 2,5 l min<sup>-1</sup> para a combustão e transferência dos vapores gerados até o sistema de combustão. A vazão de ar e acetileno da chama do espectrômetro foi fixada em 16 e 2 l min<sup>-1</sup> neste estudo, usando, sobre a chama do espectrômetro, tubo metálico sem furos para testes com o Cd e tubo com 12 furos na base para testes com o Pb.

### **3.13. Otimização da estequiometria da chama para determinação de Cd e Pb por MIC-FF-AAS**

Combinações de vazões de ar e acetileno iguais a 12 e 2,3; 12 e 2; 14 e 2; 16 e 2 e 18 e 2 l min<sup>-1</sup> foram empregadas para o estudo da melhor estequiometria da chama. A vazão de oxigênio utilizada para a combustão das amostras e transporte dos vapores da queima até o sistema de atomização foi de acordo com sua respectiva otimização, realizada anteriormente.

A escolha da melhor vazão de oxigênio e melhor estequiometria da chama para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado no sistema MIC-FF-AAS foi através da análise do perfil do sinal analítico obtido e da massa característica calculada para a solução de referência e sangue liofilizado. Testes estatísticos foram feitos em todas as etapas de otimização, usando o *software* Graph Pad, Inc. Insttat 2.1, relacionando os resultados obtidos para solução de referência e para o sangue liofilizado.

### **3.14. Otimização da faixa de massa de amostra a ser utilizada no sistema MIC-FF-AAS**

Foram feitas curvas de calibração para Cd e Pb empregando o procedimento proposto com a combustão de grafite impregnado com solução de referência. Também, foram gerados gráficos de massa de sangue liofilizado em função da concentração do analito, com a combustão de diferentes massas, para verificar a dispersão dos valores de concentração com o acréscimo de massa de amostra.

Massas de 3,5 a 100 mg foram empregadas nesta otimização e demais parâmetros operacionais foram adotados conforme as otimizações já efetivadas. O limite de massa aplicada ao MIC-FF-AAS foi determinado através da análise do desvio padrão ( $s$ ) e da linearidade.

A concentração de Cd e Pb foi determinada no sangue liofilizado e em materiais de referência por MIC-FF-AAS, comparando-se os resultados com os obtidos por ICP-MS, após decomposição por via úmida.

Ainda, fez-se a quantificação de Cd e Pb em outras amostras de sangue liofilizado através da técnica de MIC-FF-AAS.

Por fim, foram determinados o limite de detecção e quantificação e a frequência de determinação, comparando estes e outros parâmetros do método com outros trabalhos que determinaram Cd ou Pb por SS-F AAS.

## 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

---

### 4.1. Estudo dos parâmetros operacionais

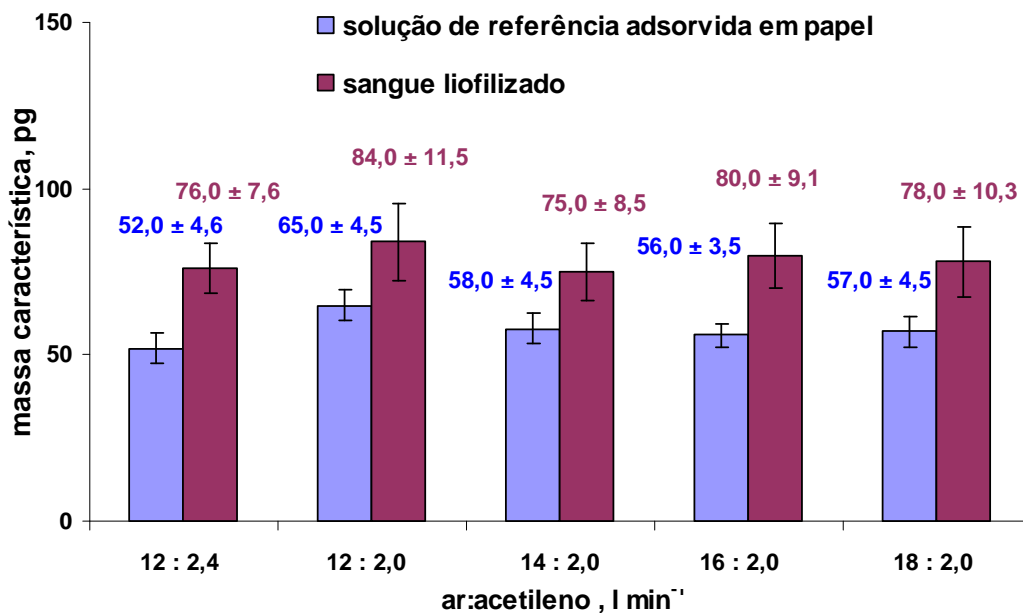
Inicialmente, os testes foram feitos mantendo a estequiometria da chama de acordo com os parâmetros operacionais segundo Bartz,<sup>9</sup> que foi empregada para a determinação de Cd em sangue liofilizado. Assim, as vazões de ar e acetileno foram de 14 e 2 l min<sup>-1</sup>, respectivamente, a vazão de oxigênio na câmara de combustão de 1 l min<sup>-1</sup>, e uso de tubo metálico sem furos adicionais. Os testes para Pb foram feitos usando a estequiometria da chama com vazões de ar e acetileno iguais a 12 e 2 l min<sup>-1</sup>, respectivamente, vazão de oxigênio na câmara de combustão de 1 l min<sup>-1</sup> e tubo metálico com 12 furos adicionais. Para a confecção dos comprimidos, foram pesadas diferentes massas de sangue liofilizado, sendo logo após prensadas e as soluções de referência foram impregnadas no papel conforme já descrito anteriormente.

Para a determinação de Cd e Pb empregando-se MIC-FF-AAS nas condições citadas anteriormente, as massas características das soluções de referência absorvidas no papel e das amostras foram diferentes (aplicando o teste t, nível de confiança de 95%). Inicialmente, avaliou-se a influência da estequiometria da chama sobre os resultados de massa característica. Foram investigadas vazões de ar entre 12 e 18 l min<sup>-1</sup> e acetileno entre 2 e 2,4 l min<sup>-1</sup>.

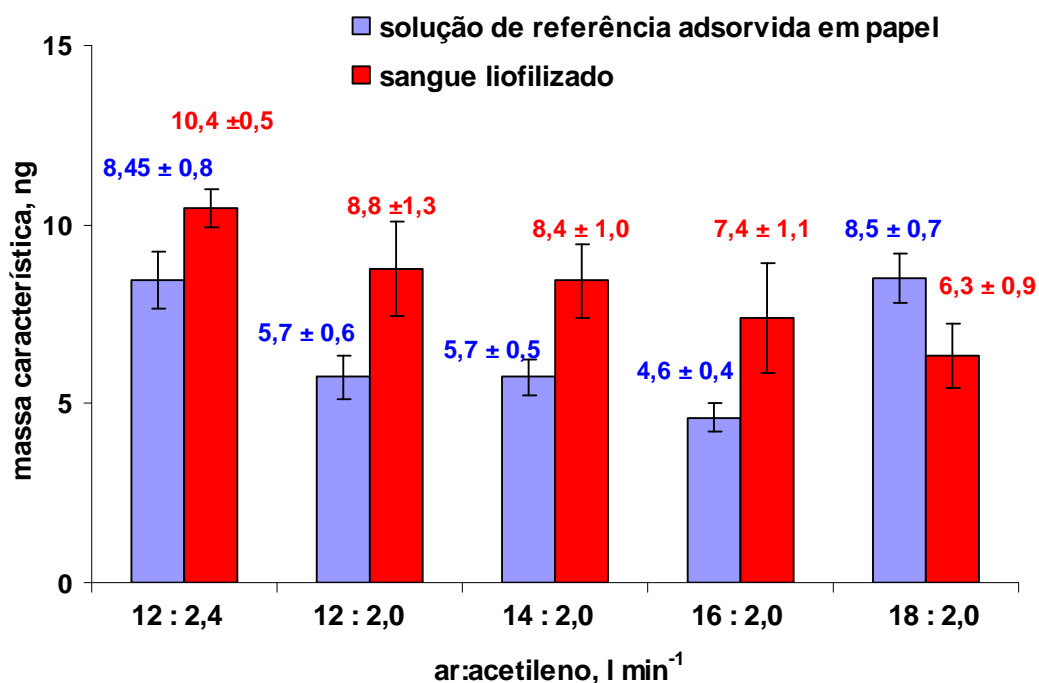
Nas Figuras 14 e 15, pode-se verificar o comportamento das massas características para Cd e Pb, nas soluções de referência, adsorvidas em papel e nos comprimidos de sangue liofilizado.

---

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.



**Figura 14.** Estudo das vazões de ar e acetileno na determinação de Cd (massa de Cd na solução de referência adsorvida em papel: 10 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo sem furos adicionais; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).



**Figura 15.** Estudo das vazões de ar e acetileno na determinação de Pb (massa de Pb na solução de referência: 200 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo com 12 furos; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).

Verificou-se que para a determinação de Cd (utilizando tubo metálico sem furos na chama), em todas as vazões de ar e acetileno testadas anteriormente, houve uma menor variação dos resultados de massa característica do analito na amostra em relação à determinação de Pb. Provavelmente, para a determinação de Cd, a estequiometria da chama não influenciou muito, por não haver uma introdução da chama no tubo, proporcionando apenas uma variação na temperatura no interior do tubo. Para a determinação de Pb (utilizando tubo metálico com 12 furos), houve uma maior variação dos resultados, com a alteração da estequiometria da chama, devido à introdução da chama no interior do tubo metálico. Em relação aos valores de massa característica obtidos para a determinação de Cd e Pb entre as soluções de referência e as amostras, verificou-se que houve diferença significativa para todas as proporções de gases empregadas (teste t, nível de confiança de 95%). Desse modo, tanto para Cd quanto para Pb, não foi possível a calibração com o emprego de soluções de referência adsorvida em papel. Provavelmente, a razão destes resultados deve-se à diferença de cinética de vaporização dos analitos a partir da matriz do papel e do sangue liofilizado. Ainda, foi verificada uma maior formação de fuligem nas paredes internas da câmara quando o comprimido de sangue liofilizado sofria a combustão, em relação à queima do papel.

Como o emprego de materiais de referência sólidos na etapa de calibração torna o procedimento analítico relativamente mais caro, avaliou-se a possibilidade do emprego de algum material sintético de menor custo.<sup>64</sup> Grafite já foi utilizada com sucesso na etapa de calibração em procedimentos de análise de amostras sólidas, empregando F AAS.<sup>98</sup> Dessa forma, testou-se a calibração adicionando-se soluções de referência em comprimidos de 20 mg de grafite. Para as amostras, foram feitas misturas de sangue liofilizado com 20 mg de grafite, aumentando a massa de amostra. Na Tabela 2, são apresentadas as proporções de amostra e grafite nos comprimidos.

---

<sup>64</sup> LANGMYHR, F. J., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 654-656.

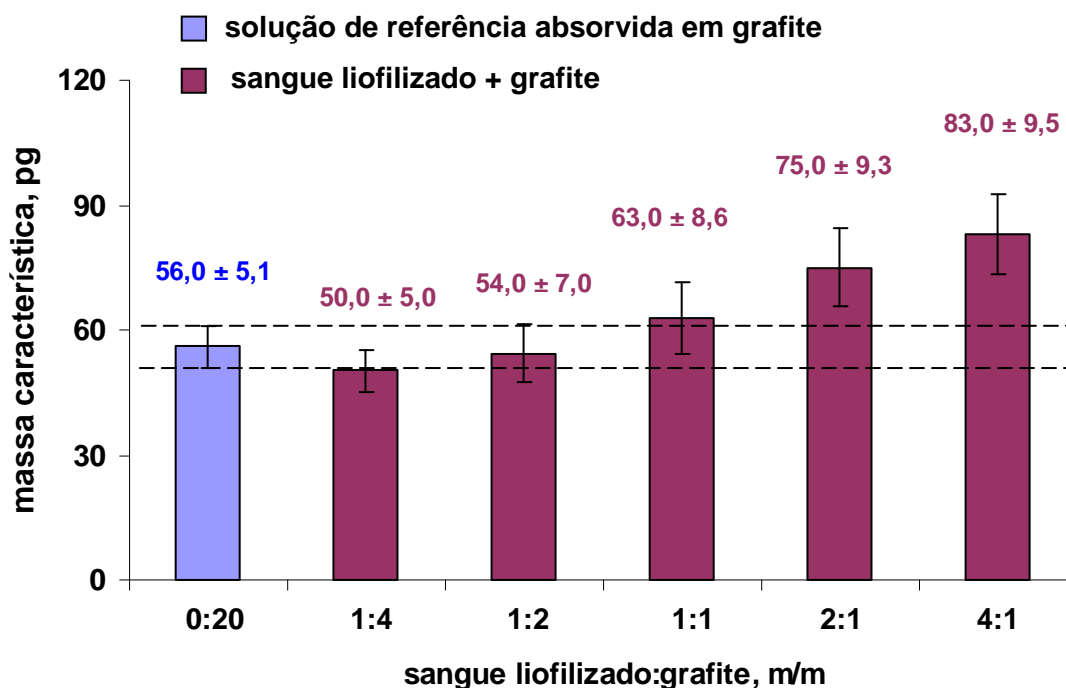
<sup>98</sup> SAIDELLES, A. P. F., Tese de Doutorado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2005.



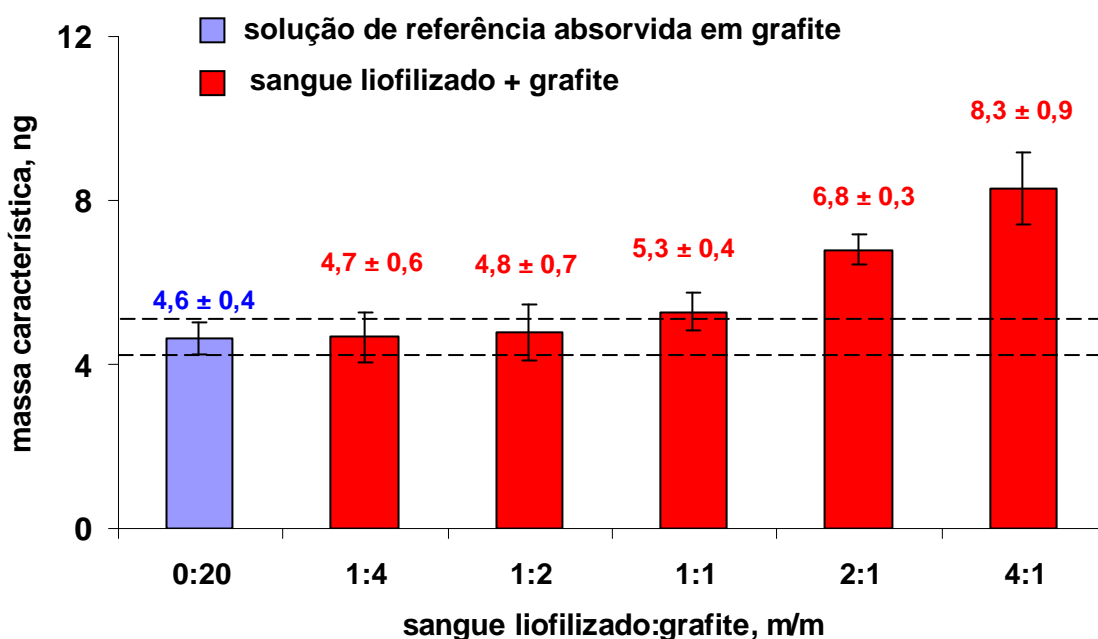
**Tabela 2.** Condições de mistura de grafite com sangue previamente liofilizado.

Proporção sangue liofilizado:grafite	0:20	1:4	1:2	1:1	2:1	4:1
Sangue liofilizado (mg)	0	5	10	20	40	80
Grafite (mg)	20	20	20	20	20	20
Massa total do comprimido (mg)	20	25	30	40	60	100

Os resultados de massa característica para as diferentes proporções (amostra:grafite) avaliadas para a determinação de Cd e Pb, segundo as proporções descritas na Tabela 2, encontram-se nas Figuras 16 e 17.



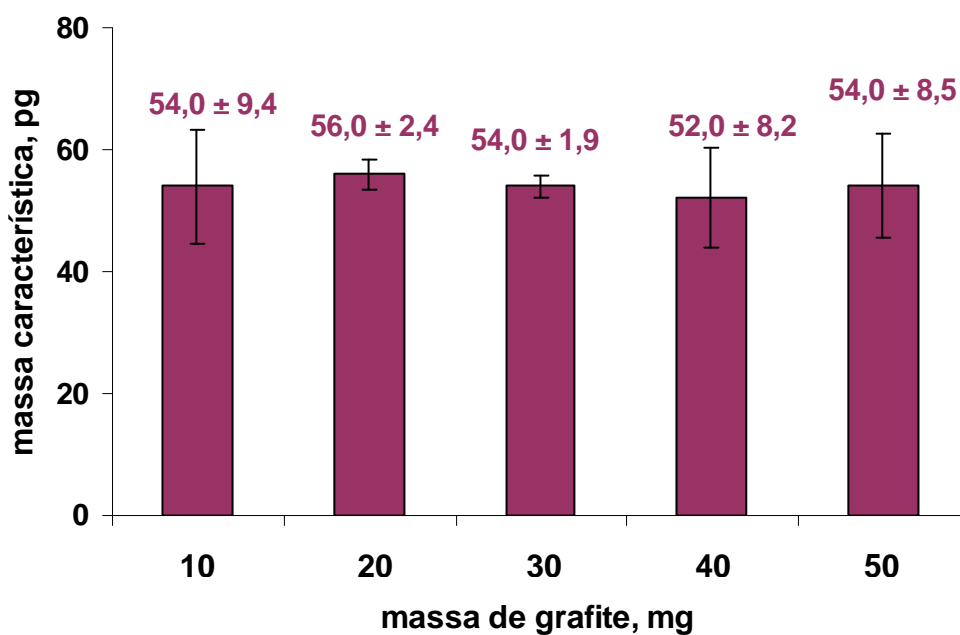
**Figura 16.** Estudo da proporção de sangue liofilizado:grafite para a determinação de Cd (massa de Cd no comprimido de grafite: 10 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo sem furos adicionais, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).



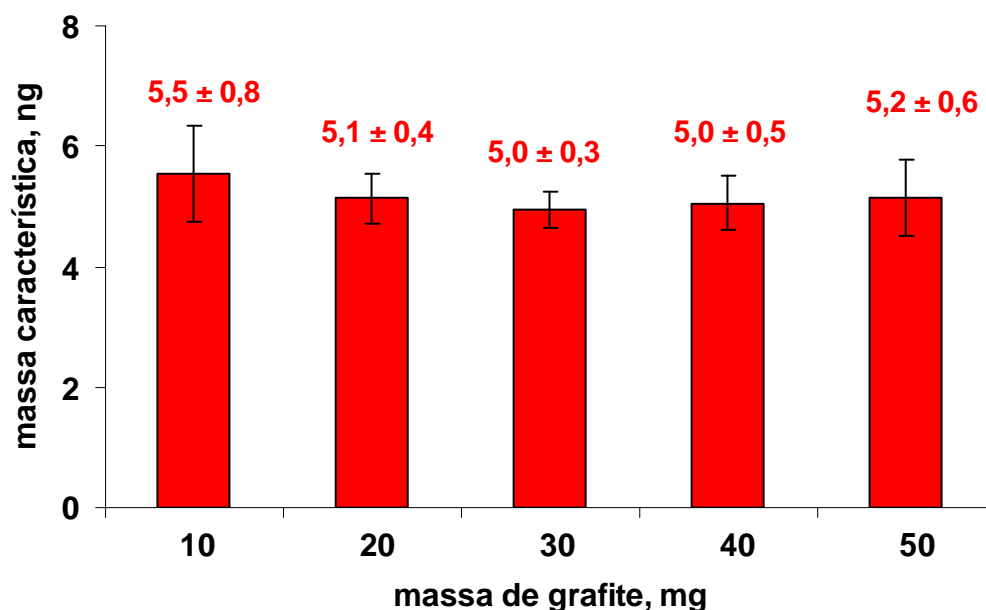
**Figura 17.** Estudo da proporção de sangue liofilizado:grafite para a determinação de Pb (massa de Pb no comprimido de grafite: 200 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo com 12 furos, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).

Quando os resultados de massa característica entre os comprimidos de grafite contendo apenas solução de referência com comprimidos contendo grafite e sangue liofilizado foram comparados, observou-se que, na proporção de até 1:1, (sangue liofilizado:grafite, m/m), os valores de massa característica foram estatisticamente iguais para Cd e Pb (teste t, nível de confiança de 95%). Provavelmente, a grafite auxiliou na combustão e vaporização dos analitos de uma maneira semelhante tanto para as soluções de referência como para as amostras. Em proporções superiores a 1:1 percebeu-se que, houve diferença entre os valores de massa característica das soluções de referência e das amostras. Neste caso, possivelmente, a matriz do sangue prevaleceu sobre a grafite, diferenciando a combustão e vaporização dos analitos. De acordo com esses resultados, comprovou-se que a calibração do equipamento para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado por MIC-FF-AAS poderia ser feita empregando-se grafite para minimização das diferenças de matriz e, conseqüentemente, de volatilização para amostras e soluções de referência.

Dessa forma, fez-se o estudo da massa de grafite a ser utilizada para a calibração. Comprimidos de grafite com massas de 10 a 50 mg foram feitos, adicionando-se massas fixas de Cd e Pb através de soluções de referência aquosas. Nas Figuras 18 e 19, são apresentados os resultados das massas características deste estudo.



**Figura 18.** Estudo da massa de grafite empregada para a determinação de Cd pelo sistema MIC-FF-AAS. (massa de Cd no comprimido de grafite: 10 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo sem furos adicionais, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).



**Figura 19.** Estudo da massa de grafite empregada para a determinação de Pb pelo sistema MIC-FF-AAS (massa de Pb no comprimido de grafite: 200 ng, vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo com 12 furos, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão).

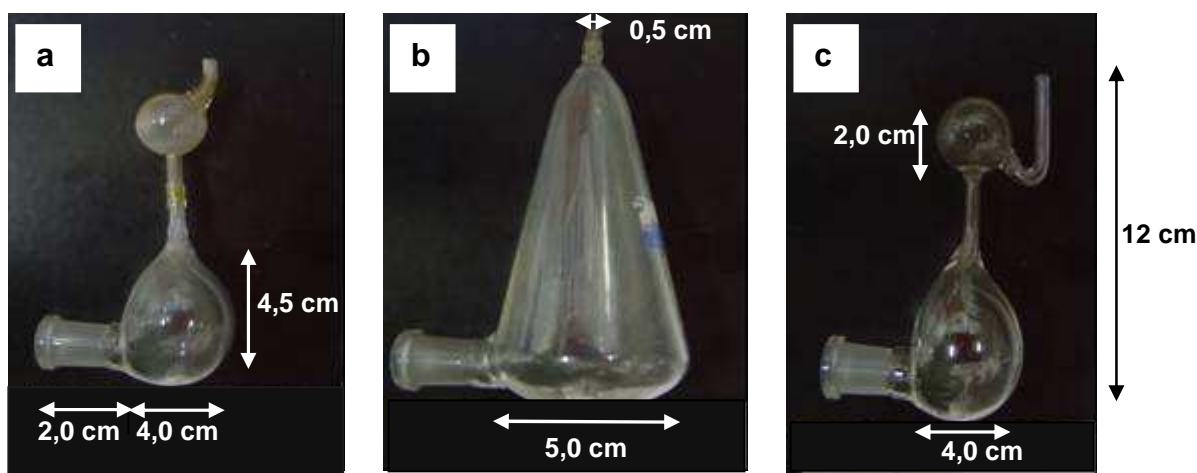
De acordo com as Figuras 18 e 19, percebeu-se que na faixa de 10 a 50 mg de grafite não houve diferença significativa nas massas características das soluções de referência adsorvidas na grafite (teste t, nível de confiança de 95%). Porém, para massas inferiores a 30 mg de grafite nem sempre era possível a completa incorporação da solução de referência, sendo esta transferida para o papel de filtro. Quando isto acontecia o perfil de sinal apresentava picos duplos, provavelmente em função da diferença de transporte pelas condições de combustão do papel e de grafite. Dessa forma, optou-se em usar 30 mg de grafite nas otimizações posteriores.

## 4.2. Otimizações para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado por MIC-FF-AAS

Após definida a massa de grafite para a calibração para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado por MIC-FF-AAS, procedeu-se à otimização do sistema, mantendo-se constante a massa de grafite. Primeiramente, foram testados diferentes tipos de câmaras e suportes para o processo de combustão. Também foram investigados o volume de solução de nitrato de amônio 50% (m/v), a vazão de oxigênio na câmara de combustão, a estequiometria da chama e o estudo da faixa linear.

### 4.2.1. Otimização do modelo da câmara de combustão para o sistema MIC-FF-AAS

Considerando a importância do volume da câmara de combustão, no que diz respeito à queima e ao transporte dos analitos para o sistema de atomização, foram testados três tipos de câmaras de combustão de vidro borossilicato (Figura 20), desenvolvidas no Laboratório de Hialotecnica da UFSM.



**Figura 20.** Modelo da (a) câmara utilizada por Bartz<sup>9</sup>, (b) câmara em forma cônica e (c) câmara em peça única.

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

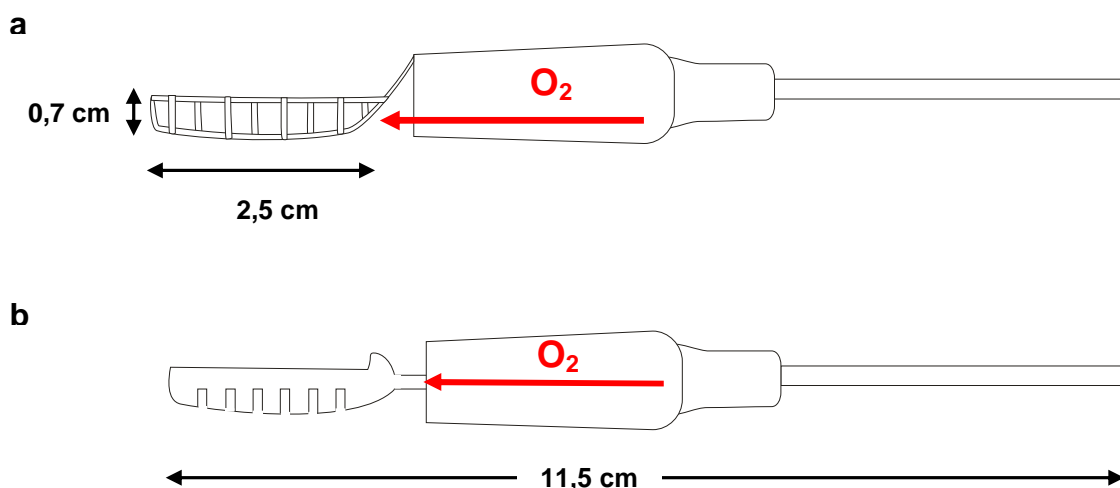
A câmara da Figura 20a foi empregada em investigação anterior<sup>9</sup>, na combustão de amostras de tecido vegetal empregando MIC-FF-AAS, mas apresentou um problema referente ao superaquecimento da conexão de *tygon* que unia os balões superior e inferior, durante a queima do comprimido. Em função disto, uma nova câmara (Figura 20b) foi desenvolvida, com formato cônico e volume de 125 ml. Por apresentar maior superfície de contato, e, conseqüentemente, paredes frias ao longo da câmara, houve uma maior deposição de fuligem da queima das amostras nas paredes internas desta, prejudicando a repetitividade dos resultados. Então, optou-se pelo uso de uma câmara semelhante à primeira (volume de 50 ml), mas feita em peça única (Figura 20c) evitando, assim, o superaquecimento verificado na conexão de *tygon* da câmara da Figura 20a. Dessa forma, para testes posteriores, usou-se esta última configuração de câmara, pois apresentou menos formação de fuligem nas paredes internas em comparação à anterior.

#### 4.2.2. Otimização do modelo de suporte para a amostra

Os testes iniciais foram feitos usando o suporte proposto por Bartz<sup>9</sup> (Figura 23a) com entrada de oxigênio na parte inferior do mesmo. Usando esse suporte, freqüentemente ocorria a queda dos comprimidos por entre as suas ranhuras, durante a combustão, ocasionando aquecimento pontual na parte inferior da câmara de combustão e conseqüente quebra da câmara (Figura 21a). Assim, desenvolveu-se um suporte conforme Figura 21b.

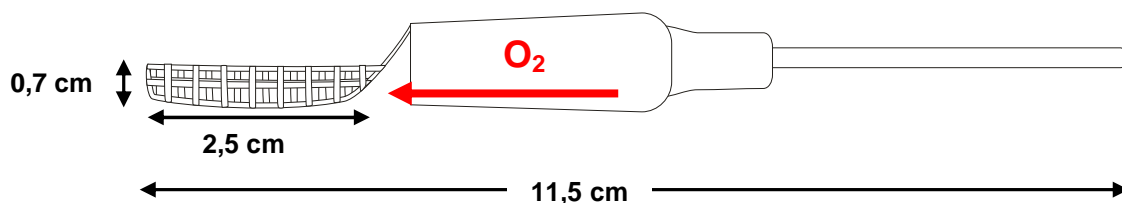
---

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.



**Figura 21.** Modelo do (a) suporte para amostra proposto por Bartz<sup>9</sup> e (b) suporte com fendas menores e com entrada de oxigênio passando na parte superior da amostra.

O incremento no número de ranhuras no suporte impediu a queda do comprimido entre suas fendas. Porém, com a entrada de oxigênio passando na parte superior da amostra, o início do processo de combustão não foi reprodutível, provavelmente, devido ao caminho preferencial do oxigênio pela saída do balão superior da câmara, tendo pouco contato com a amostra. Por fim, desenvolveu-se um suporte com maior número de ranhuras, em relação à primeira e com a entrada de oxigênio pela parte inferior do suporte (Figura 22).



**Figura 22.** Suporte para amostras com fendas menores e passagem de oxigênio na parte inferior.

Este suporte melhorou a repetitividade das queimas e evitou a queda dos comprimidos durante a etapa de combustão. Desta forma, este dispositivo foi empregado para as otimizações posteriores.

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

Por não haver material em quantidade suficiente para absorver a irradiação de microondas, um béquer contendo 100 ml de água foi posicionado na cavidade do forno de microondas, para prevenir eventuais danos no magnetron, por reflexão de microondas não absorvidas.<sup>34,116</sup>

#### 4.2.3. Tubos usados para transportar os vapores da câmara de combustão ao sistema de atomização

Os tubos utilizados para transportar os vapores da câmara de combustão até o sistema de atomização foram semelhantes aos tubos do sistema proposto por Bartz<sup>9</sup> para MIC-FF-AAS. Todas as configurações foram adequadas quanto à facilidade de montagem e limpeza e transferência de vapores até o atomizador.

O material do tubo metálico posicionado sobre a chama do espectrômetro e utilizado para a atomização foi o mesmo utilizado por Bartz<sup>9</sup>, apresentando boa estabilidade térmica e resistência química frente à ação da chama ar e acetileno, bem como do ataque dos gases da combustão carregados até o seu interior. Um tubo sem nenhuma modificação foi adequado ao uso durante todo o estudo. O tubo com 12 furos na base teve vida útil de aproximadamente 200 h.

É importante destacar que o tubo com furos na base deve ser posicionado sobre o queimador após a ignição da chama. Caso contrário, o tubo poderá ser preenchido por uma mistura de gases, ar e acetileno, ficando ali confinada e podendo explodir no momento da ignição.<sup>18</sup>

Baseado em estudos prévios, definiu-se a distância de 4 mm entre o tubo metálico e a base do queimador do espectrômetro.<sup>9,16,20,86</sup>

---

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

<sup>16</sup> BERNDT, H., DAVIES, J., *Anal. Chim. Acta* 479 (2003) 215-223.

<sup>18</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 587-597.

<sup>20</sup> BERNDT, H., RATKA, A., *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (2004) 416-422.

<sup>34</sup> De la GUARDIA, M. *et al.*, *Talanta* 40 (1993) 1609-1617.

<sup>86</sup> NÓBREGA, J. A. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 749-753.

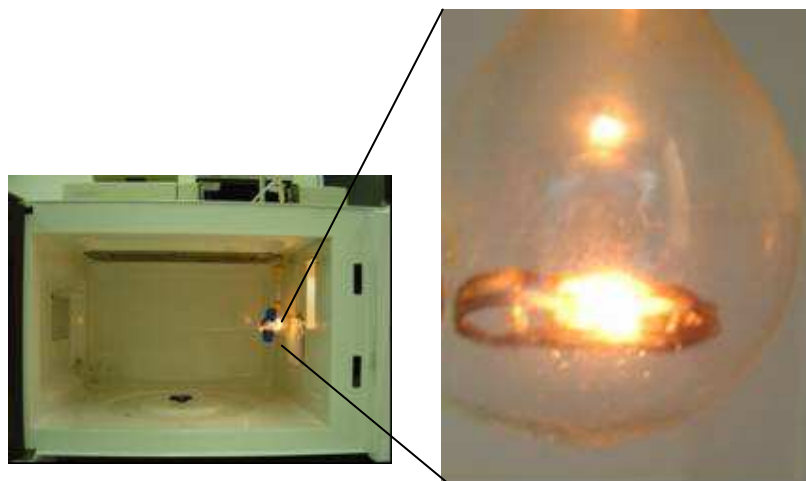
<sup>116</sup> ZLOTORZYNSKI, A., *Crit. Rev. Anal. Chem.* 25 (1995) 43-76.



#### 4.2.4. Volume de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 50% (m/v) necessário para o processo de combustão

Outro parâmetro avaliado foi o volume da solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) usado para iniciar o processo de combustão. Desta forma, foram avaliados volumes entre 10 e 50  $\mu\text{l}$ , adicionados sobre o papel de filtro que envolvia os comprimidos. Com volumes inferiores a 40  $\mu\text{l}$  de solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) a combustão ocorria em apenas 50% das vezes, queimando somente o papel e não o comprimido.

Provavelmente, com volumes inferiores a 40  $\mu\text{l}$  há baixa repetitividade da combustão, devido à baixa quantidade de água presente, que exerce papel fundamental nesta etapa para desencadear o processo de combustão juntamente com o  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . O início da combustão (Figura 23) também pode ser influenciado pelo volume da câmara utilizada, assim como potência do forno de microondas e, ainda, pela vazão de oxigênio. O tempo necessário para o início da combustão variou entre 10 e 20 s para o volume de 40  $\mu\text{l}$ .



**Figura 23.** Ilustração do processo de combustão no sistema MIC-FF-AAS.

Para otimizações posteriores, fixou-se o volume de 40  $\mu\text{l}$  da solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% (m/v) garantindo, assim, a queima dos comprimidos.

#### 4.2.5. Concentração de Cd e Pb no papel filtro e na grafite utilizado no processo de combustão

O papel filtro e a grafite, utilizados no processo de combustão, foram decompostos para a determinação da concentração de Cd e Pb conforme item 3.6 (Materiais e Métodos). Se o papel e a grafite apresentarem concentrações relativamente elevadas dos elementos em estudo, estes poderão ser fontes de contaminação, influenciando nos valores de LD e LQ do método.

As determinações de Cd e Pb no papel foram feitas por ICP-MS e os resultados foram de  $<0,001$  e  $0,070 \pm 0,010 \mu\text{g g}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente. Considerando-se que a massa de papel utilizada no sistema foi de aproximadamente 20 mg, a contaminação relativa ao papel filtro pode ser desconsiderada.

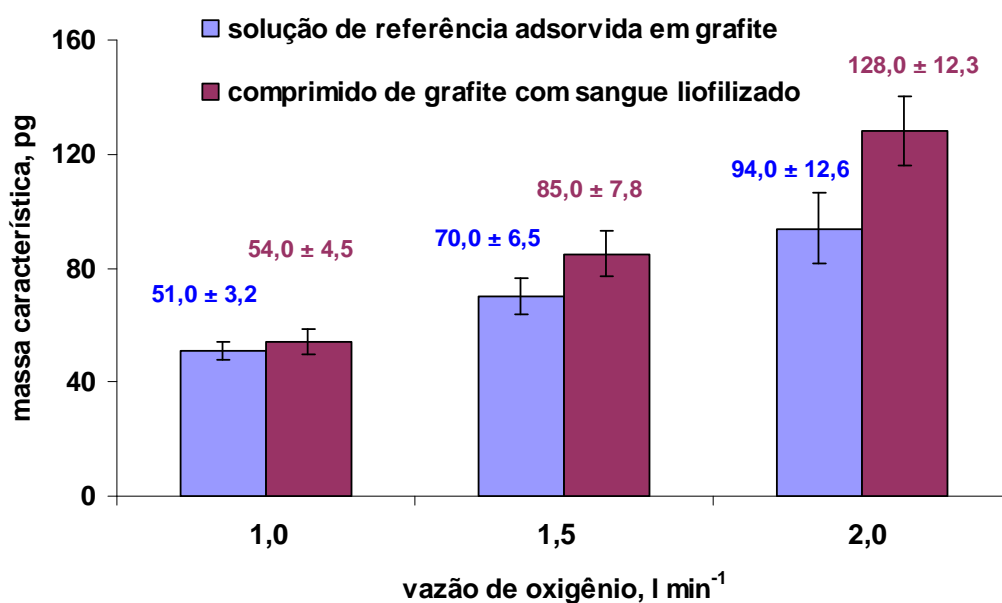
A grafite foi decomposta e Cd e Pb foram determinados por ICP-MS, verificando-se uma concentração relativamente alta de Pb ( $0,89 \pm 0,08 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Na tentativa de reduzir a concentração de Pb na grafite, foram feitos dois procedimentos de descontaminação, conforme descrição no item 3.6.1 (Materiais e Métodos). Os resultados empregando os dois procedimentos foram semelhantes ( $0,131 \pm 0,018 \mu\text{g g}^{-1}$  Pb) sendo, então, escolhido o procedimento "a", uma vez que é relativamente mais prático e rápido. A concentração de Cd na grafite permaneceu constante antes e depois do processo de descontaminação ( $0,006 \pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Desta forma, após o processo de descontaminação foi possível o emprego da grafite para a calibração por MIC-FF-AAS.

#### 4.2.6. Vazão de oxigênio mais adequada para o sistema

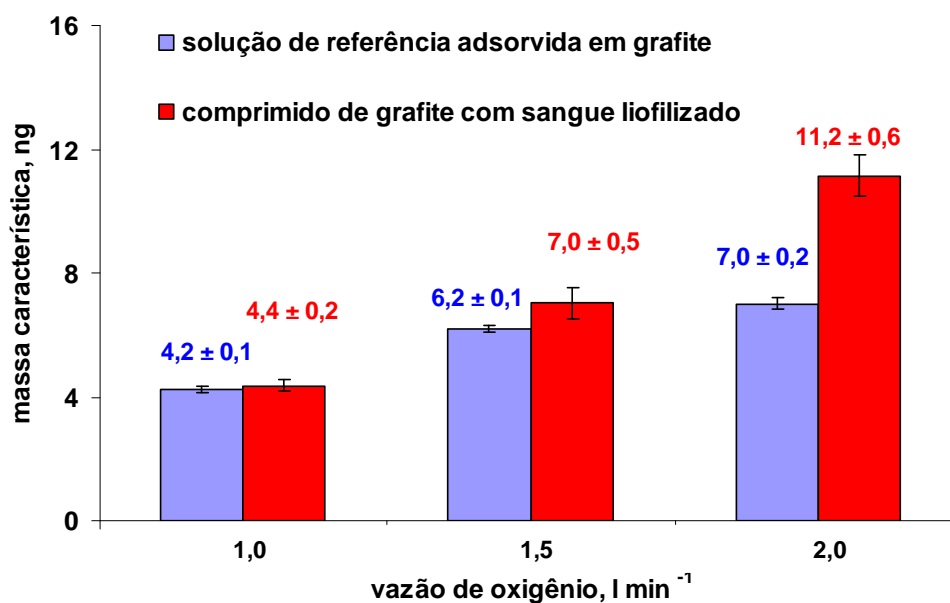
O oxigênio foi utilizado como oxidante no processo de combustão, e como carregador dos vapores gerados, durante a combustão, até o sistema de atomização.

No presente trabalho foram investigadas a influência das vazões de oxigênio no intervalo de 0,5 a 2,5 l min<sup>-1</sup>. Entretanto, somente vazões entre 1 e 2 l min<sup>-1</sup> proporcionaram ignições reproduzíveis do processo de combustão. A

ignição utilizando vazões inferiores a  $1 \text{ l min}^{-1}$  ou superiores a  $2 \text{ l min}^{-1}$  não ocorria em cerca de 50% das tentativas. Provavelmente, com vazão inferior a  $1 \text{ l min}^{-1}$ , não há oxigênio suficiente para a ignição do processo de combustão e, com vazão superior a  $2 \text{ l min}^{-1}$ , pode ocorrer a secagem do papel, contendo solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , antes mesmo do aquecimento do sistema pela irradiação com microondas. Ainda, para vazão inferior a  $1 \text{ l min}^{-1}$ , quando a queima ocorria, mais material condensava nas paredes dos tubos utilizados para transferência dos vapores, principalmente quando massas maiores de amostra eram utilizadas. Cabe ressaltar que este efeito deve ser influenciado pelo sistema utilizado no processo de combustão. Os resultados obtidos nesta otimização, para Cd e Pb, estão demonstrados nas Figuras 24 e 25, respectivamente.



**Figura 24.** Estudo da vazão de  $\text{O}_2$  mais adequada para a combustão para a determinação de Cd. Massa de Cd no comprimido de grafite: 5 ng, massa de Cd no sangue liofilizado: 6,47 ng (10 mg de sangue liofilizado). Tubo sem modificações, vazão de ar e acetileno: 16 e  $2 \text{ l min}^{-1}$ ; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.



**Figura 25.** Estudo da vazão de O<sub>2</sub> mais adequada para a combustão para a determinação de Pb. Massa de Pb no comprimido de grafite: 200 ng, massa de Pb no sangue liofilizado: 193,1 ng (10 mg de sangue liofilizado). Tubo com 12 furos, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.

Em termos de sensibilidade, a vazão de 1 l min<sup>-1</sup> foi a melhor para a combustão e transporte dos vapores até o sistema de atomização para ambos os elementos em estudo. Provavelmente, há menor diluição da nuvem atômica com esta vazão, uma vez que quanto mais se aumentava a vazão de oxigênio, aumentava o valor da massa característica para os comprimidos de grafite e para os comprimidos contendo sangue liofilizado para ambos os elementos em estudo. Esses resultados foram concordantes com o trabalho de Campos *et al.*<sup>28</sup>

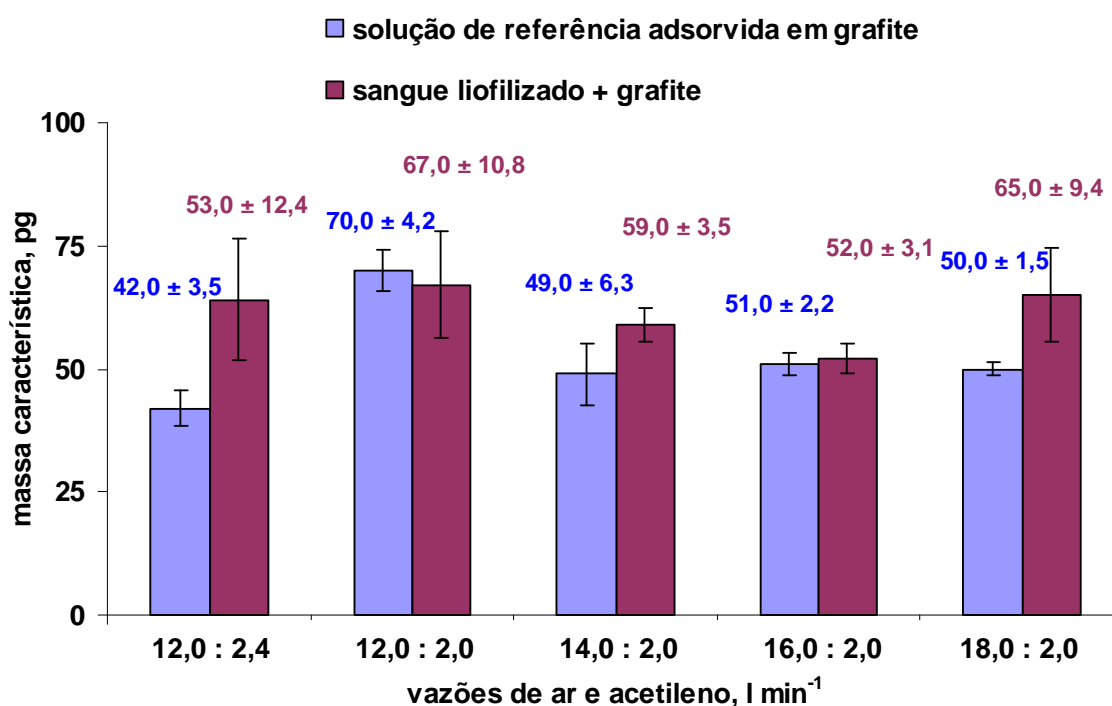
Com vazões de oxigênio superiores a 2 l min<sup>-1</sup>, observou-se que a combustão dos comprimidos era relativamente mais violenta, quanto à de 1 l min<sup>-1</sup>, sendo que os produtos da combustão eram projetados nas paredes da câmara de combustão, prejudicando a sensibilidade e a repetitividade das determinações. Além disso, na vazão de 1 l min<sup>-1</sup>, os valores de massa característica da solução de referência e amostra sólida, para Cd e Pb, foram estatisticamente iguais (teste t, nível de confiança de 95%). Dessa forma, esta foi a vazão escolhida para o sistema MIC-FF-AAS.

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.

#### 4.2.7. Otimização da estequiometria da chama para o sistema MIC-FF-AAS

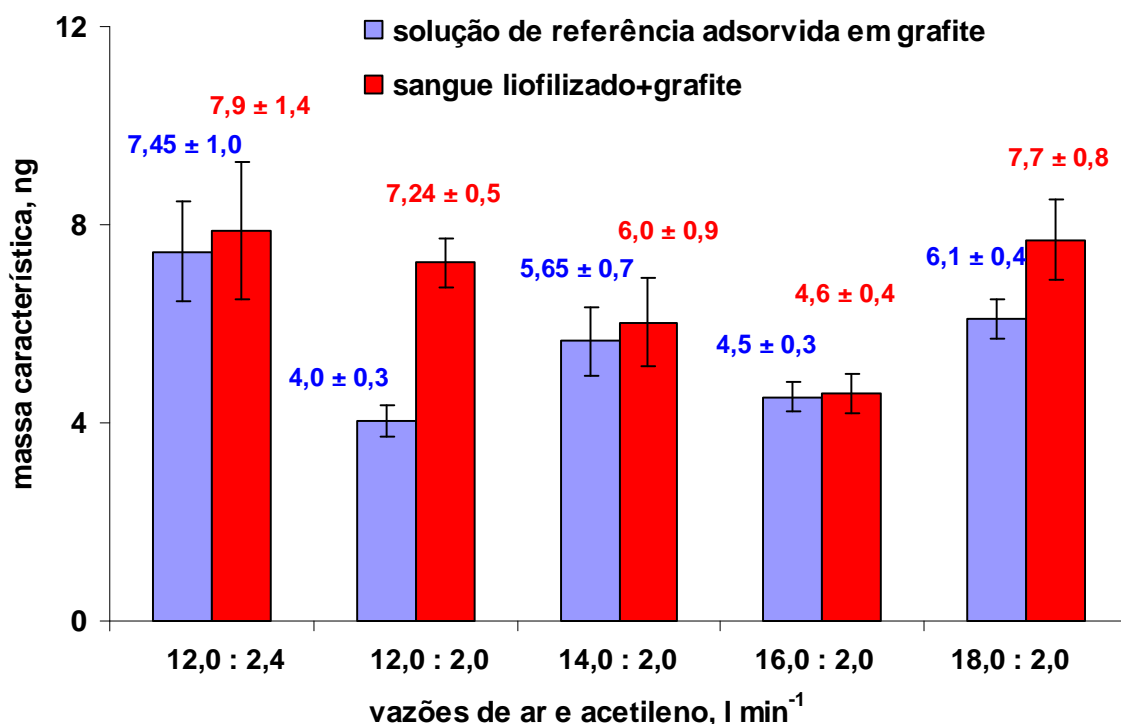
A estequiometria da chama ar e acetileno pode influenciar na atomização de Cd e Pb em função da temperatura do tubo na chama, bem como dos radicais formados no interior do tubo, ou seja, do ambiente de atomização. Recentemente, foi observado que chamas relativamente oxidantes são mais favoráveis para a atomização de Cd utilizando a técnica TS-FF-AAS, quando o tubo metálico continha 6 furos de 2 mm de diâmetro cada.<sup>24</sup>

Para este estudo, como a chama se extinguia com vazões de ar e acetileno menores que 12 e 2 l min<sup>-1</sup>, respectivamente, e vazões de acetileno superiores a 2,5 l min<sup>-1</sup> diminuía muito a vida útil do tubo de atomização utilizado, vazões de ar e acetileno foram assim empregadas: 12 e 2,4, 12 e 2, 14 e 2, 16 e 2 e 18 e 2 l min<sup>-1</sup>. Nas Figuras 26 e 27, são mostrados os resultados de massa característica obtidos nesta otimização para Cd e Pb.



**Figura 26.** Estudo da influência da vazão de ar e acetileno para a determinação de Cd. Massa de Cd no comprimido de grafite: 5 ng, massa de Cd no sangue liofilizado: 6,4 ng (10 mg de sangue). Vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo sem modificações; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.

<sup>24</sup> BRANCALION, M. L., Dissertação de Mestrado, UNICAMP, Campinas/SP, 2006.



**Figura 27.** Estudo da influência da vazão de ar e acetileno para a determinação de Pb. Massa de Pb no comprimido de grafite: 200 ng, massa de Pb no sangue liofilizado: 193,1 ng (10 mg de sangue). Vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo com 12 furos; cada barra representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.

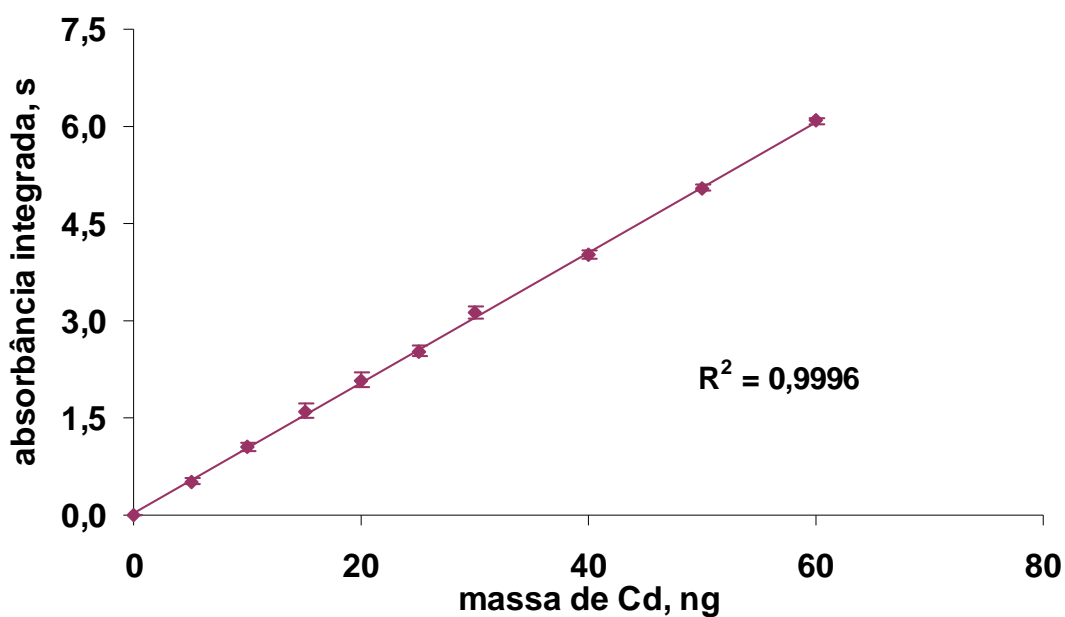
Verificou-se que, tanto para Cd quanto para Pb, chamadas relativamente mais oxidantes foram as que proporcionaram os resultados mais semelhantes entre as massas características da solução do comprimido de grafite e do comprimido contendo sangue liofilizado. A vazão de ar e acetileno de 16 e 2 l min<sup>-1</sup> foi a escolhida para ambos os elementos. Essas afirmações estão de acordo com os resultados obtidos em outros trabalhos que empregaram tubos aquecidos na chama.<sup>9,24</sup>

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

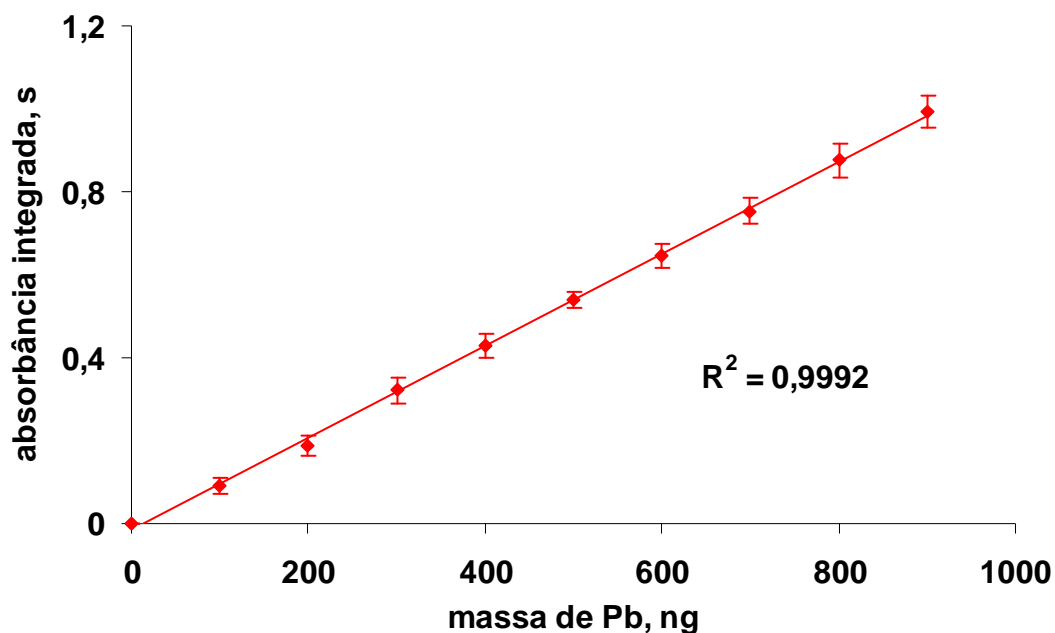
<sup>24</sup> BRANCALION, M. L., Dissertação de Mestrado, UNICAMP, Campinas/SP, 2006.

#### 4.2.8. Avaliação da linearidade da curva analítica utilizando o sistema MIC-FF-AAS

Para verificar a quantidade de amostra introduzida no sistema MIC-FF-AAS, primeiramente, foram feitas as curvas de calibração com as soluções de referência de Cd e de Pb adsorvidas no comprimido de grafite (Figuras 28 e 29).



**Figura 28.** Curva de calibração obtida para Cd. Vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo sem modificações, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada ponto representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.

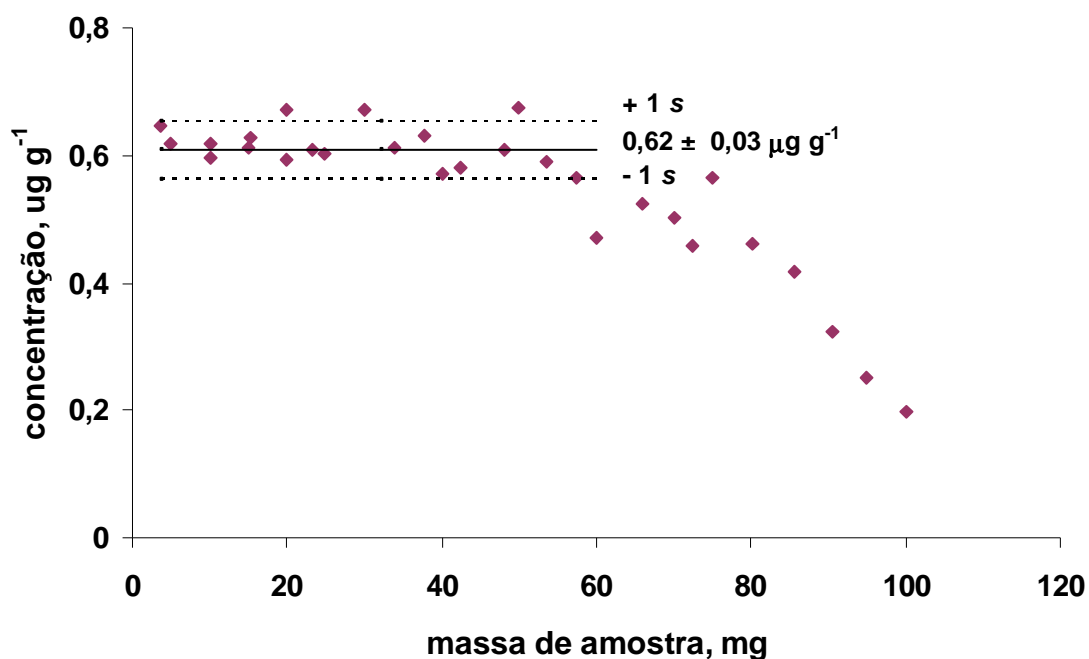


**Figura 29.** Curva de calibração obtida para Pb. Vazão de oxigênio: 1 l min<sup>-1</sup>, tubo com 12 furos, vazão de ar e acetileno: 16 e 2 l min<sup>-1</sup>; cada ponto representa a média de 5 medidas e as barras verticais o respectivo desvio padrão.

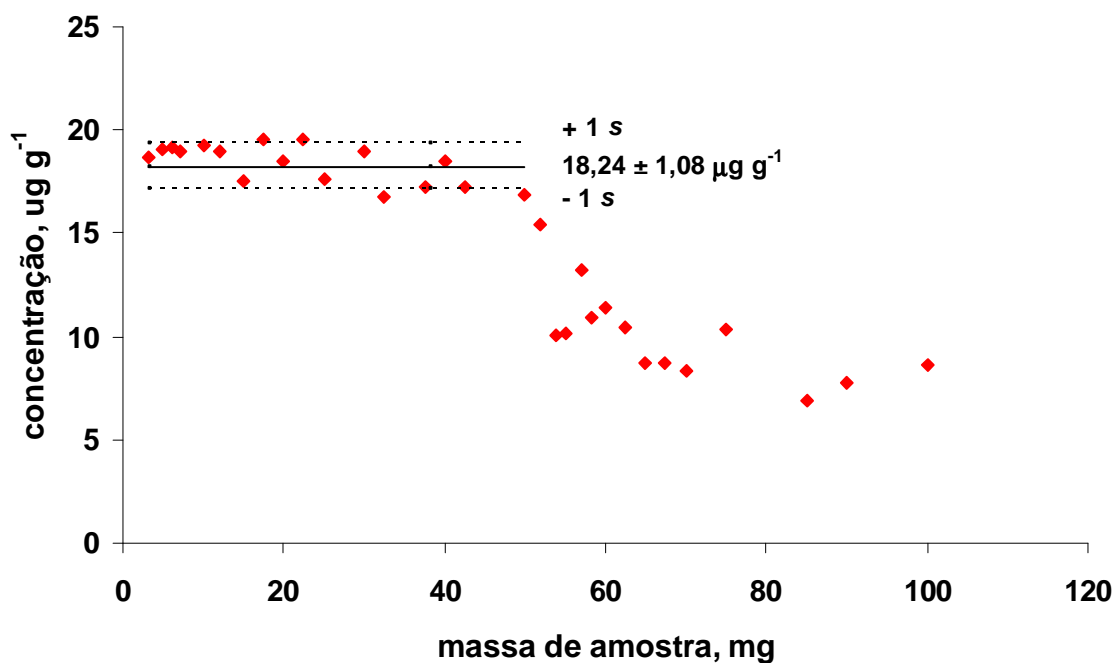
Para a faixa de massa de analito apresentada na Figura 28 (até 60 ng de Cd) e na Figura 29 (até 900 ng de Pb), verificou-se boa correlação para os resultados de absorbância obtidos (teste *Pearson r*).

Nas Figuras 30 e 31, são mostrados os resultados de concentração para Cd e Pb, respectivamente, em comprimidos de grafite contendo sangue liofilizado, com incremento de massa de sangue liofilizado.





**Figura 30.** Resultados de concentração de Cd obtidos com o incremento de massa de sangue liofilizado. Vazão de oxigênio:  $1 \text{ l min}^{-1}$ , tubo sem modificações, vazão de ar e acetileno:  $16$  e  $2 \text{ l min}^{-1}$ .



**Figura 31.** Resultados de concentração de Pb obtidos com o incremento de massa de sangue liofilizado. Vazão de oxigênio:  $1 \text{ l min}^{-1}$ , tubo com 12 furos, vazão de ar e acetileno:  $16$  e  $2 \text{ l min}^{-1}$ .

Observa-se nas Figuras 31 e 32, que foi possível a introdução de até 50 mg de amostra no sistema de combustão. A partir desta massa, os resultados de concentração de Cd e Pb são subestimados. Cabe ressaltar que 50 mg de amostra correspondem a um comprimido de 80 mg (30 mg de grafite + 50 mg de sangue liofilizado).

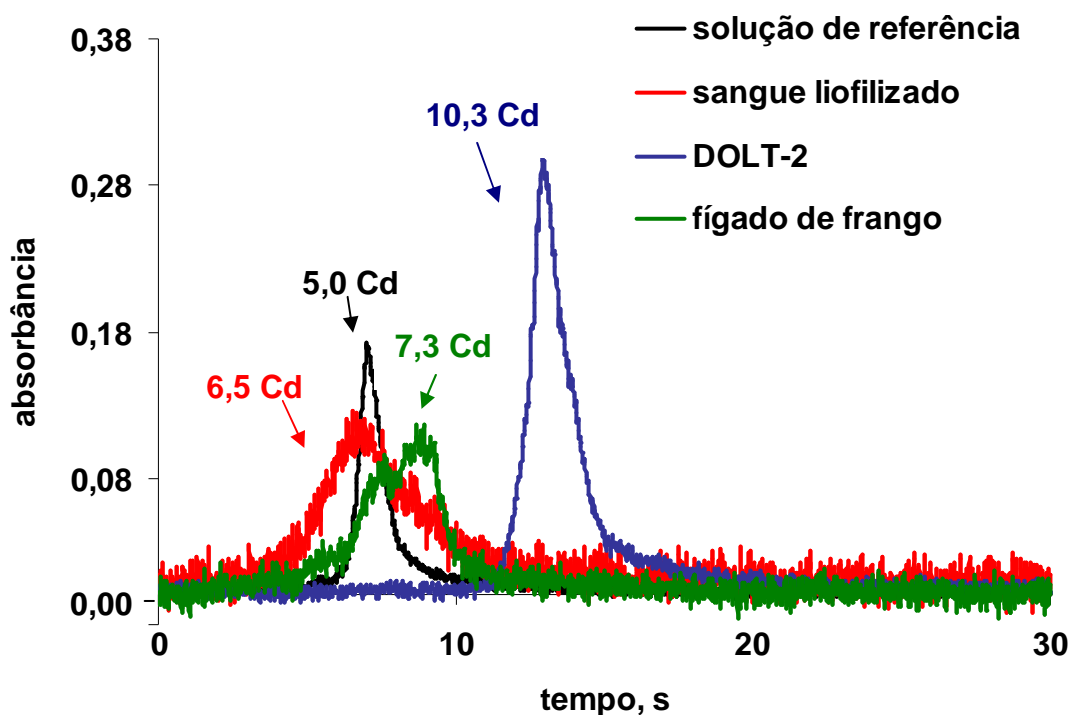
Quando massas maiores que 50 mg são empregadas no processo de combustão, verificou-se que mais material sólido ficava aderido nas paredes internas do sistema (Figura 32), necessitando-se fazer a limpeza da câmara de combustão entre cada queima de amostra.



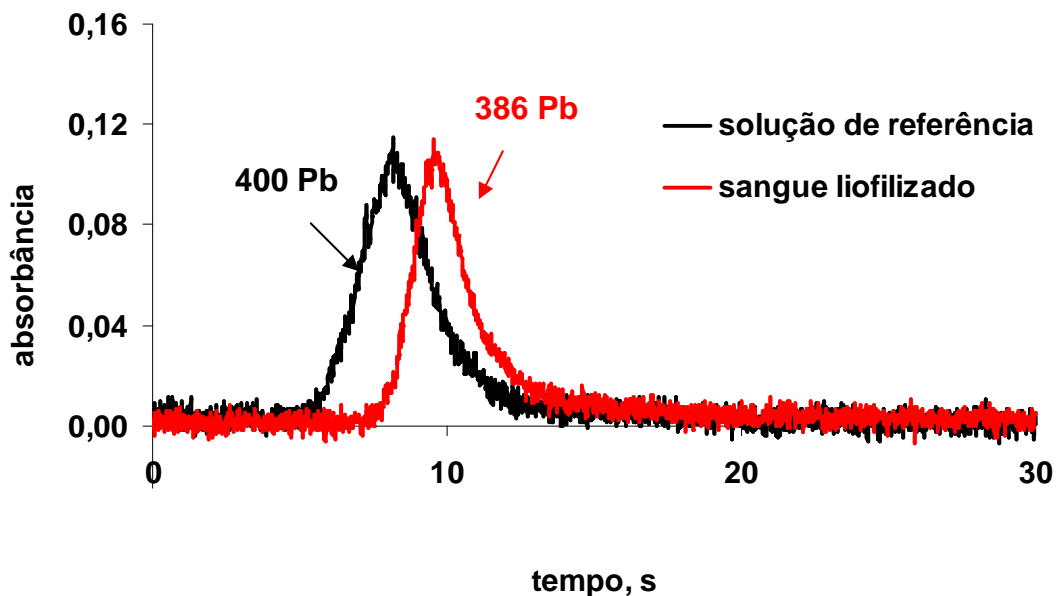
**Figura 32.** Câmara de combustão com material da amostra aderido nas paredes internas.

Sendo assim, usou-se um intervalo de massa de 3,5 e 50 mg para a determinação de Cd e Pb pelo sistema MIC-FF-AAS. Os valores de RSD, para Cd e Pb, foram sempre inferiores a 6%, dentro desta faixa de massa.

As Figuras 33 e 34 apresentam o perfil do sinal analítico para Cd e Pb, respectivamente, para comprimidos de grafite contendo solução de referência e comprimidos de grafite com diferentes amostras sólidas.



**Figura 33.** Perfil dos sinais analíticos para determinação de Cd após combustão de comprimidos de grafite com solução de referência e comprimidos de grafite com diferentes amostras, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados. Os valores indicam a massa de Cd, em ng, para as diferentes amostras.



**Figura 34.** Perfil dos sinais analíticos para determinação de Pb após combustão de comprimidos de grafite com solução de referência e comprimidos de grafite com sangue liofilizado, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados. Os valores indicam a massa de Pb, em ng, para as diferentes amostras.

Verificou-se ainda o perfil do sinal de fundo, para Cd e Pb, em solução de referência e amostra sólida (aproximadamente 10 mg de sangue liofilizado + 30 mg de grafite), conforme pode ser observado nas Figuras 35 e 36.

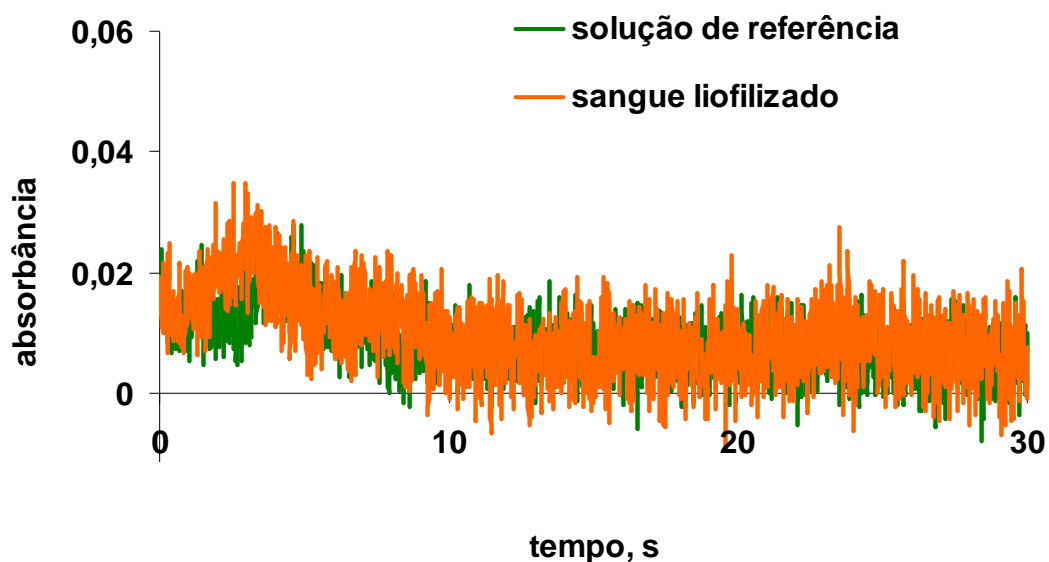


Figura 35. Perfil do sinal de fundo para Cd, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados.

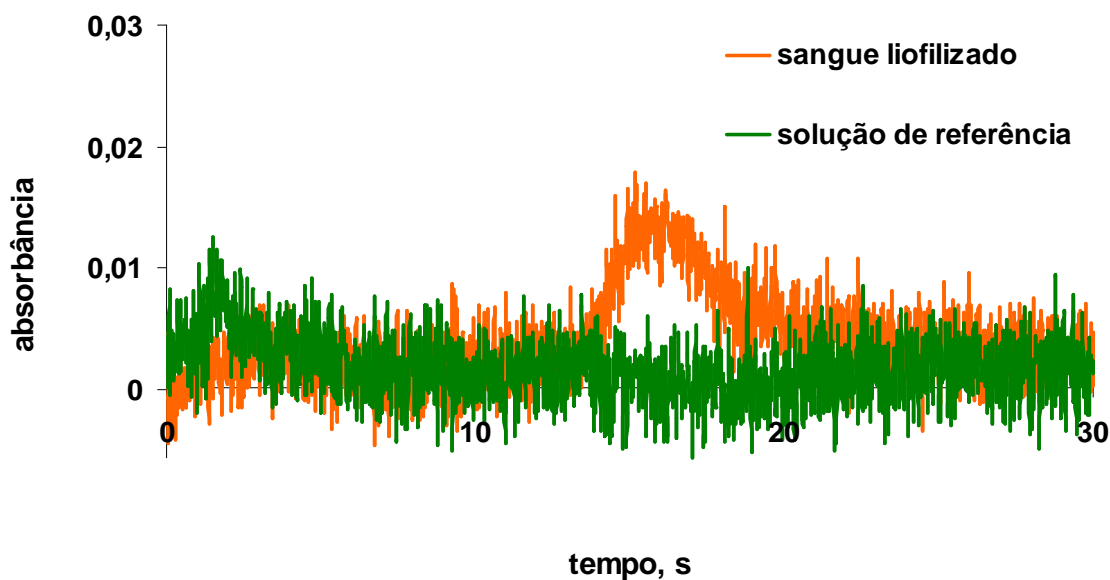


Figura 36. Perfil do sinal de fundo para Pb, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados.

De acordo com as Figuras 35 e 36, para a determinação de Cd e Pb em amostras de sangue liofilizado por MIC-FF-AAS (com a combustão de 10 mg de amostra + 30 mg de grafite), obteve-se valores de sinal de fundo, medidos em altura de pico, de 0,035 para Cd e de 0,018 para Pb. Desse modo, não houve problemas de correção de sinal de fundo.

Comparando a intensidade do sinal de fundo entre Cd e Pb, verificou-se que este foi maior para Cd, provavelmente em função do uso de tubo sem modificações na base, em comparação a Pb, onde se utilizou tubo metálico com 12 furos. Desta forma, acredita-se que a chama do sistema de atomização contribua no ambiente para a atomização, em especial para Pb, o que pode explicar o motivo pelo qual o valor de sinal de fundo tenha sido menor. Esses resultados foram concordantes com o trabalho de Bartz<sup>9</sup>, que usou esse sistema para amostras vegetais.

O sistema MIC-FF-AAS, apresentou valores menores de sinal de fundo em relação ao trabalho de Campos *et al.*<sup>28</sup>, que usou menor massa de tecido vegetal e obteve valores de sinal de fundo relativamente superiores. Isto se deve, provavelmente em função da maior difusão dos vapores após a combustão, já que a distância percorrida, do sistema de combustão até o sistema de atomização, em relação ao sistema utilizado é consideravelmente maior.

---

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.

#### 4.2.9. Considerações finais quanto às condições de operação

As condições otimizadas de operação do sistema MIC-FF-AAS para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Condições de operação otimizadas para o sistema MIC-FF-AAS

Variáveis	Condições para Cd e Pb
Volume de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 50 % (m/v), $\mu\text{l}$	40
Vazão de $\text{O}_2$ , $\text{l min}^{-1}$	1
Vazões de ar e acetileno, $\text{l min}^{-1}$	16 e 2
Faixa de massa de amostra, mg	3-50
Massa de grafite, mg	30

#### 4.3. Determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado pelo sistema MIC-FF-AAS

Após a otimização dos parâmetros para o sistema MIC-FF-AAS, determinou-se Cd e Pb em sangue liofilizado (Tabela 4), e para avaliar a exatidão do procedimento, usaram-se materiais de referência, bem como a técnica de ICP-MS (após decomposição por via úmida das amostras). Deve-se ressaltar que, com o processo de liofilização das amostras, ocorreu uma pré-concentração dos analitos, em fator de 3,33, referente à eliminação da água.

**Tabela 4.** Resultados para Cd e Pb em sangue liofilizado e material de referência (resultados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $3 \leq n \leq 5$ ).

Elemento	Material	Valor certificado ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Técnica ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
			MIC-FF-AAS	ICP-MS
Cd	Sangue liofilizado 1*	-	$0,62 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,04$
	Sangue liofilizado 2*	-	$< 0,006$	$< 0,002$
	Sangue liofilizado 3*	-	$< 0,006$	$< 0,002$
	DOLT-2	$20,80 \pm 0,50$	$20,64 \pm 0,21$	-
	Fígado de frango	-	$7,29 \pm 0,41$	$7,15 \pm 0,25$
Pb	Sangue liofilizado 1*	-	$18,98 \pm 0,33$	$20,22 \pm 1,46$
	Sangue liofilizado 2*	-	$< 0,65$	$0,18 \pm 0,02$
	Sangue liofilizado 3*	-	$< 0,65$	$0,17 \pm 0,03$

\* Considerando um fator de concentração de 3,33x, referente à eliminação de água no processo de liofilização.

Os valores de concentração, para Cd e Pb, obtidos por MIC-FF-AAS, são estatisticamente iguais (análise de variância – ANOVA, intervalo de confiança de 95%) aos valores de referência ou aos valores obtidos pela técnica de ICP-MS.

Os limites de detecção e quantificação absolutos (em massa), obtidos foram de 0,30 e 1,0 ng para Cd e 32,4 e 108 ng para Pb, respectivamente. Como branco analítico foi considerado o valor obtido pela combustão do papel de filtro e da grafite utilizada no procedimento. Considerando-se a combustão de 50 mg de sangue liofilizado, foi possível a obtenção de limites de quantificação de  $20 \text{ ng g}^{-1}$  e  $2,2 \mu\text{g g}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente.

Na Tabela 5, determinou-se a concentração de Cd e Pb em duas amostras de sangue, considerando a amostra de sangue em base seca (liofilizada) e em base úmida (sangue total).

**Tabela 5.** Concentração de Cd e Pb em amostras de sangue (n=3).

Amostras	Cd		Pb	
	Sangue 2	Sangue 3	Sangue 2	Sangue 3
Liofilizado, $\mu\text{g g}^{-1}$ *	< 0,006	< 0,006	< 0,65	< 0,65
Total, $\mu\text{g dl}^{-1}$	< 0,17	< 0,17	< 18,8	< 18,8

\* Considerando o fator concentração de 3,33x, referente à eliminação da água no processo de liofilização.

Verificou-se que os valores de concentrações de Cd e Pb no sangue liofilizado 2 e 3 estão abaixo dos limites de detecção do sistema MIC-FF-AAS (Tabela 4). Adicionalmente, os valores para Pb no sangue total estão abaixo do valor do IBMP ( $60 \mu\text{g dl}^{-1}$ ). Para Cd, não existem limites, segundo a legislação brasileira, deste elemento para amostras de sangue, pois o controle é feito através da urina. Na Alemanha, o valor de Cd comumente encontrado no sangue de adultos é de  $0,1 \mu\text{g dl}^{-1}$ , da mesma ordem de grandeza do limite de detecção do sistema MIC-FF-AAS.

Comparando os valores de Cd e Pb em sangue encontrados, recentemente no trabalho de Neto *et al.*<sup>85</sup>, que foram de  $0,2 \mu\text{g dl}^{-1}$  para Cd e de 9,0 até  $28,2 \mu\text{g dl}^{-1}$  para Pb, determinados por GF AAS, os valores encontrados para Cd e Pb nos sangues 2 e 3, por MIC-FF-AAS estão na mesma ordem de grandeza.

Alguns parâmetros do sistema MIC-FF-AAS foram comparados com outros procedimentos que empregam a análise de amostras sólidas por F AAS e de soluções por F AAS (Tabela 6).

<sup>85</sup> NETO, J.A.G. *et al.*, *J. Anal. Atomic. Spectrom.* 19 (2004) 917-922.



**Tabela 6.** Massa de amostra (m), limite de detecção e massa característica em diferentes procedimentos de análise por espectrometria de absorção atômica com chama.

Técnica	Cd			Pb		
	m (mg)	LD (ng g <sup>-1</sup> )	m <sub>0</sub> (ng)	m (mg)	LD (ng g <sup>-1</sup> )	m <sub>0</sub> (ng)
Procedimento proposto por MIC-FF-AAS	50	6	0,05	50	648	4,5
MIC-FF-AAS <sup>9</sup>	60	2,7	0,05	60	240	4,1
F AAS <sup>18</sup>	-	10.10 <sup>3**</sup>	1,08*	-	100.10 <sup>3**</sup>	40*
SS-F AAS <sup>32</sup>	21	11	0,19	-	-	-
SS-F AAS <sup>27</sup>	10	30	0,2	10	1620	4,4
SS-F AAS <sup>28</sup>	2	-	0,006	2	-	0,35
Sistema de Delves <sup>36</sup>	-	-	-	0,01	-	0,1

\* 100 µl

\*\* decomposição de 100 mg de amostra, com aferição a 25 ml.

Pode-se observar um incremento de 22 vezes para Cd e 9 vezes para Pb, em termos de massa característica do procedimento proposto neste trabalho em relação à análise de soluções decompostas por F AAS<sup>18</sup>. Para Cd e Pb, a massa de amostra possível de ser empregada no sistema foi a maior quando comparada com as demais, exceto ao trabalho proposto por Bartz<sup>9</sup>, que foi de 60 mg de amostra, provavelmente, devido a matriz de amostra utilizada, em comparação à amostra biológica, como sangue, que possui maior matéria orgânica. Para Cd e Pb, os limites de detecção foram relativamente inferiores somente ao trabalho proposto por Bartz<sup>9</sup> (Tabela 6).

<sup>9</sup> BARTZ, F. R., Dissertação de Mestrado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2007.

<sup>18</sup> BERNDT, H., GÁSPÁR, A., *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 587-597.

<sup>27</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66-71.

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.

<sup>32</sup> COSTA, A. B., Tese de Doutorado, PPGQ, UFSM, Santa Maria/RS, 2004.

<sup>36</sup> DELVES, H. T., *Analyst* 95 (1970) 431-438.

Em comparação ao trabalho de Campos *et al.*<sup>28</sup> (introdução direta dos vapores gerados em um tubo posicionado sobre a chama do espectrômetro), a massa característica do método proposto foi superior para os dois elementos estudados. Provavelmente, a eficiência de transporte dos vapores no procedimento de Campos *et al.*<sup>28</sup> é superior ao procedimento proposto, mesmo porque a distância entre a câmara de combustão e o espectrômetro e a vazão de oxigênio empregada, são maiores para a técnica MIC-FF-AAS, havendo maior dispersão dos vapores gerados no processo de combustão.

Em comparação ao trabalho de Delves<sup>36</sup>, que apresentou melhor massa característica para a determinação de chumbo, foi verificado a introdução de massa relativamente menor em relação a todos os demais trabalhos, além de se obter valores de RSD relativamente maiores.

Verificou-se a frequência de determinação pelo sistema MIC-FF-AAS, que foi de 15 determinações por hora (excluindo as etapas prévias até a confecção dos comprimidos com grafite). Comparando a frequência de determinação utilizando um equipamento de GF AAS, dependendo das condições aplicadas, é de aproximadamente 20 determinações por hora, verifica-se que se encontram na mesma ordem de grandeza.

---

<sup>28</sup> CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669-673.

<sup>36</sup> DELVES, H. T., *Analyst* 95 (1970) 431-438.

## 5. CONCLUSÃO

---

O sistema MIC-FF-AAS utilizado para a determinação de Cd e Pb em sangue liofilizado permitiu a eliminação da etapa de decomposição da amostra por via úmida, embora tenha que se fazer um prévio tratamento da amostra como a liofilização. O acoplamento do sistema de combustão com o de atomização empregando tubo metálico, permitiu melhores resultados referentes à sensibilidade e LQ, com relação à sistemas convencionais baseados na decomposição da amostra e atomização por F AAS.

O sistema de combustão é de fácil montagem e limpeza, sendo possível de ser adaptado a espectrômetros de absorção atômica com chama convencionais. A possibilidade de calibração com solução de referência adsorvida em comprimidos de grafite é uma vantagem, em termos de custo e praticidade, em relação ao uso de materiais de referência certificados sólidos, conforme proposto para trabalhos com análise direta de sólidos encontrados na literatura.

Resultados concordantes foram obtidos na determinação de Cd e Pb em amostras biológicas, em comparação com valores de referência e os valores obtidos pela técnica de ICP-MS (após decomposição por via úmida).

Dessa forma, a quantificação de Cd e Pb em diferentes amostras sólidas de matriz relativamente complexa por MIC-FF-AAS pode ser investigada, tornando-se uma alternativa promissora, aliando as vantagens da combustão de amostras sólidas e da espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Agency for Toxic Substance & Disease Registry, *Toxicological Profile for Cadmium*, disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>, acessado em 12/06/2007.
2. Agency for Toxic Substance & Disease Registry, *Toxicological Profile for Lead, Draft for Public Comment*, disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>, acessado em 12/06/2007.
3. ALVARADO, J., JAFFÉ, R., Determination of lead by atomic absorption spectrometry using tube-in-flame atomization and solid sampling, *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 1297-1300.
4. ALVARADO, J., JAFFÉ, R., Tube in flame atomisation: a way of enhancing detection limits in flame atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 37-40.
5. ARRUDA, M. A. Z., SANTELLI, R., E., Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte, *Quím. Nova* **20** (1997) 638-643.
6. BARIN, J. S., *Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por microondas*, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2003.

7. BARIN, J. S., FLORES, E. M. M., KNAPP, G., *Trends in sample preparation using combustion techniques*, in: ARRUDA, M. A. Z. (Ed.), *Trends in Sample Preparation*, Nova Science Publishers, Hauppauge, 2006.
8. BARNARD, J. A., BRADLEY, J. N., *Flame and combustion*, New York: Chapman and Hall, 1985. 308p.
9. BARTZ, F. R., *Combustão iniciada por microondas e determinação em linha de Cd e Pb em plantas por espectrometria de absorção atômica com tubo aquecido na chama*, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2007.
10. BECKER, K., KAUS, S., LEPOM, C., SCHULZ, C., SEIWERT, M., SEIFERT, B., German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in blood of the German population, *Int. J. Hyg. Environ. Health* **205** (2002) 297-308.
11. BELARRA, M. A., RESANO, M., CASTILLO, J. R., Discrimination of the causes of imprecision in the direct determination of metals in organic solid samples by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998) 489-494.
12. BELARRA, M. A., RESANO, M., VANHAECKE, F., MOENS, S., Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how?, *Trends Anal. Chem.* **21** (2002) 828-839.
13. BENDICHO, C., LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C., Solid sampling in electrothermal atomic absorption spectrometry using commercial atomizers – A review, *J. Anal. At. Spectrom.* **6** (1991) 353-373.
14. BENNETT, G., *Tratado de medicina interna*, vol. 1, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. 1266p.

15. BERGLUND, M., BAXTER, D. C., Methods of calibration in the direct analysis of solid sample by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta* **47** (1992) 1567-1586.
16. BERNDT, H., DAVIES, J., Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* **479** (2003) 215-223.
17. BERNDT, H., GÁSPÁR, A., Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: a new method, *Anal. Chem.* **72** (2000) 240-246.
18. BERNDT, H., GÁSPÁR, A., Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a sample method for trace element determination with microsamples in the µg/l concentration range, *Spectrochim. Acta Part B* **55** (2000) 587-597.
19. BERNDT, H., Probeneintragssystem mit probenverbrennung oder probenvorverdampfung für die direkte feststoffanalyse und für die lösungsspektralanalyse, *Spectrochim. Acta Part B* **39** (1984) 1121-1128.
20. BERNDT, H., RATKA, A., Beam-injection flame furnace AAS: comparison of different nozzle types for beam generation and application of sub-critical liquid carbon dioxide as carrier and gas pressure pump, *Anal. Bioanal. Chem.* **378** (2004) 416-422.
21. BERTIN G., AVERBECK, D., Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences – A review, *Biochimie* **88** (2006) 1549–1559.
22. BEZUR, L., VARGA, J., Development of thermo-AAS instrumentation to evaluate the volatilization of metals from different matrices, *Microchem. J.* **51** (1995) 319-330.

23. BRANCALION, M. L., ARRUDA, M. A. Z., Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS, *Microchim. Acta* **150** (2005) 283–290.
24. BRANCALION, M. L., *Avaliação de aspectos configuracionais e analíticos da técnica TS-FF-AAS*, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade estadual de Campinas, Campinas/SP, 2006.
25. BRASIL. Ministério do Trabalho. *Norma Regulamentadora Nº 7*. In: PIMENTA, A.L. & CAPISTRANO F., org. *Saúde do Trabalhador*. São Paulo, Hucitec, 1988.
26. BURNS, D. T., ATKINSON, G. D., CHIMPALEE, N., HARRIOTT, M., Determination of lead in copper based alloys using a modified quartz tube atom trap and flame atomic-absorption spectrometry, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **331** (1988) 814-817.
27. CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., A new technique for the direct analysis of combustible solids by flame atomic absorption spectrometry, *J. Braz. Chem. Soc.* **1** (1990) 66-71.
28. CAMPOS, R. C., CURTIUS, A. J., BERNDT, H., Combustion and volatilisation of solid samples for direct atomic absorption spectrometry using silica or nickel tube furnace atomisers, *J. Anal. At. Spectrom.* **5** (1990) 669-673.
29. CARVALHO, F. M., NETO, A. M. S., TAVARES, T. M., COSTA, A. C. A., CHAVES, C. R., NASCIMENTO, L. D., REIS, M. A., Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil, *Rev. Panam. Salud. Publica/Pan Am. J. Public Health* **13** (2003) 19-24.

30. CARVALHO, F. M., SILVANY-NETO, A. M., LIMA, M. E. C., TAVARES, T. M., ALT, F., Intoxicação por chumbo e cádmio em trabalhadores de oficina para reforma de baterias em Salvador, Brasil, *Rev. Saúde Públ.*, **19** (1985) 411-420.
31. COSTA, A. B., MATTOS, J. C. P., MÜLLER, E. I., PANIZ, J. N. G., DRESSLER, V. L., FLORES, E. M. M., Use of paper capsules for cadmium determination in biological samples by solid sampling flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **60** (2005) 583-588.
32. COSTA, A. B., *Procedimento para a determinação de cádmio para análise de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com chama (SSA-F AAS)*, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2004.
33. COUDERT, M. A., VERGNAUD, J. M., Atomic absorption spectrometry for direct determination of metals in powders, *Anal. Chem.* **42** (1970) 1303-1304.
34. De la GUARDIA, M., CARBONELL, V., MORALES-RUBIO, A., SALVADOR, A., On-line microwave-assisted digestion of solid samples for their flame atomic spectrometric analysis, *Talanta* **40** (1993) 1609-1617.
35. De la GUARDIA, M., CARBONELL, V., SALVADOR, A., BURGUERA, J. L., BURGUERA, M., On-line microwave oven digestion flame atomic absorption analysis of solid samples, *Anal. Chim. Acta* **238** (1990) 417-421.
36. DELVES, H. T., A micro-sampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic-absorption spectrophotometry, *Analyst* **95** (1970) 431-438.



- 
37. Estado de São Paulo, Jornal, disponível em: <http://www.estadao.com.br/ciencia/noticias/2001/out/31/38.htm>, acessado em 10/ 2003.
38. FLORES, E. M. M., BARIN, J. S., KNAPP, G., MEDEIROS, J. A., Microwave-assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination, *Anal. Chem.* **76** (2004) 3525-3529.
39. FLORES, E. M. M., BARIN, J. S., MESKO, M. F., KNAPP, G., Sample preparation techniques based on combustion reactions in close vessels — A brief overview and recent applications, *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi:10.1016/j.sab.2007.04.018.
40. FLORES, E. M. M., COSTA, A. B., MARTINS, A. F., BARIN, J. S., PANIZ, J. N. G., DRESSLER, V. L., Direct flame solid sampling for atomic absorption spectrometry: determination of copper in bovine liver, *Spectrochim. Acta Part B* **56** (2001) 1875-1882.
41. FLORES, E. M. M., COSTA, A. B., MARTINS, A. F., MÜLLER, E. I., PANIZ, J. N. G., DRESSLER, V. L., Cadmium determination in biological samples by direct solid sampling flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **57** (2002) 2187-193.
42. FLORES, E. M. M., *Procedimento combinado para decomposição e determinação de elementos-traço por espectrometria de absorção atômica e desenvolvimento de gerador de hidretos em microescala*, Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGEM), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 1997.

43. FLORES, E. M. M., SAIDELLES, A. P. F., BARIN, J. S., MORTARI, S. R., MARTINS, A. F., Hair sample decomposition using polypropylene vials for determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* **16** (2001) 1419–1423.
44. FLORES, E. M. M., SAIDELLES, A. P. F., FLORES, E. L. M., MESKO, M. F., PEDROSO, M. P., DRESSLER, V. L., BITTENCOURT, C. F., COSTA, A. B., Determination of copper in medicinal plants used as dietary supplements by atomic absorption spectrometry with direct flame solid analysis, *Microchem. J.* **77** (2004) 113-118.
45. FLÓRIÁN, K., HASSLER, J., PLIESOVSKÁ, N., SCHRÖN, W., Direct spectrochemical analysis of solids: a method for characterization of sediments, *Microchem. J.* **54** (1996) 375-383.
46. GÁSPAR, A., SZÉLES, E., BERNDT, H., Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* **372** (2002) 136-140.
47. GERSHANIK, J. J., BROOKS, G., LITTLE, J. A., Fetal blood lead values in a rural area, *J. Pediatr.* **84** (1974) 112-113.
48. GONZÁLEZ, E., AHUMADA, R., MEDINA, V., Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en la llama: aplicación en la determinación total de cadmio, plomo y zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos, *Quím. Nova* **27** (2004) 873-877.
49. GOVINDARAJU, K., HERMANN, R., MEVELLE, G., CHOUARD, C., Solid sampling flame atomic absorption determination of cesium in silicate rock samples, *At. Absorp. Newsl.* **4** (1973) 73-76.

- 
50. GOVINDARAJU, K., MEVELLE, G., CHOUIARD, C., Direct atomic absorption determination of rubidium on pulverized silicate rock samples, *At. Absorp. Newsl.* **8** (1971) 131-137.
  51. GUO, T., BAASNER, J., On-line microwave sample pretreatment for the determination of mercury in blood by flow inject cold vapor atomic absorption spectrometry, *Talanta* **40** (1993) 1927-1936.
  52. HAN., Y., QUAN, G. B., LIU, X. Z., MA, E. P., LIU, A., JIN, P., CAO, W., Improved preservation of human red blood cells by lyophilization, *Criobiology* **51** (2005) 152-164.
  53. International Agency for Research on Cancer. *Cadmium and cadmium compounds*. In: International Agency for Research on Cancer. *Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry*. Lyon, France: IARC ,1993. 119 p.
  54. IVANOVA, E., BERNDT, H., PULVERMACHER, E., Air driven on-line separation and preconcentration on a C18 column coupled with thermospray flame furnace AAS for the determination of cadmium and lead at mg l<sup>-1</sup> levels, *J. Anal. At. Spectrom.* **19** (2004) 1507-1509.
  55. KÁNTOR, T., FODOR, P., PUNGOR, E., Detemination of traces of lead, cadmium and zinc in copper by arc-nebulization and flame atomic absorption technique, *Anal. Chim. Acta* **102** (1978) 15-23.
  56. KÁNTOR, T., PÓLOS, L., FODOR, P., PUNGOR, E., Atomic-absorption spectrometry of laser-nebulized samples, *Talanta* **23** (1976) 585-586.
  57. KASHIKI, M., OSHIMA, S., A new method for the nebulization of solid samples for atomic absorption spectroscopy, *Anal. Chim. Acta* **51** (1970) 387-392.

- 
58. KINGSTON, H. M., JASSIE, L. B., *Introduction to microwave sample preparation – theory and practice*, ACS Professional Reference Book: Washington D. C., 1988.
59. KNAPP, G., Mechanized techniques for sample decomposition and element preconcentration, *Mikrochim. Acta* **2** (1991) 445-455.
60. KOROPCHAK, J. A., VEBER, M., Thermospray sample introduction to atomic spectrometry, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **23** (1992) 113-141.
61. KURFÜRST, U., *Solid sample analysis*, Berlin: Springer, 1998. 423p.
62. L'VOV, B. V., Trace characterization of powers by atomic-absorption spectrometry, *Talanta* **23** (1976) 109-118.
63. LANGMYHR, F. J., Direct analysis of solids by atomic-absorption spectrophotometry, *Analyst* **104** (1979) 993-1015.
64. LANGMYHR, F. J., The solid sampling technique of atomic absorption spectrophotometry – what can the method do?, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **322** (1985) 654-656.
65. LARINI, L., *Toxicologia*, Manole Ltda.: São Paulo, 1997.
66. LAU, C., HELDER, A., STEPHENS, Sensitivity enhancements to flame AAS by use a flame atom trap, *Can. J. Spectrosc.* **21** (1976) 100-104.
67. LAUWERYS, R., ROELS, H., REGNIERS, M., BUCHET, J. P., BERNARD, A., GORET, AND A., Significance of cadmium concentration in blood and in urine in workers exposed to cadmium, *Environ. Res.* **20** (1979) 375-379.

- 
68. LUQUE DE CASTRO, M. D., SILVA, M. P., Strategies for solid sample treatment, *Trends Anal. Chem.* **16** (1997) 16-24.
  69. MAGALHÃES, C. E. C., ARRUDA, M. A. Z., Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras, *Quím. Nova* **21** (1998) 459-466.
  70. MAGALHÃES, C. E. C., KRUG, F. J., FOSTIER, A. H., BERNDT, H., Direct determination of mercury in sediments by atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* **12** (1997) 1231-1234.
  71. MATUSIEWICZ, H., Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **52** (1997) 1711-1736.
  72. MESKO, M. F., *Combustão iniciada por microondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas*, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2004.
  73. MESKO, M. F., MORAES, D. P., BARIN, J. S., DRESSLER, V. L., KNAPP, G., FLORES, E. M. M., Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique, *Microchem. J.* **82** (2006) 183-188.
  74. MESTER, Z., STURGEON, R. (Eds.), *Sample preparation for trace element analysis*, Amsterdam: Elsevier, 2003.
  75. Milestone, *Application notes for digestion*, Milestone, Itália: 2006.

76. MORAES, D. P., MESKO, M. F., MELLO, P. A., PANIZ, J. N. G., DRESSLER, V. L., KNAPP, G., FLORES, E. M. M., Application of microwave induced combustion in closed vessels for carbon black-containing elastomers decomposition, *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi:10.1016/j.sab.2007.03.011.
77. MOREIRA, F. R., MOREIRA, J. C., A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde, *Quím. Nova* **27** (2004) 251-260.
78. MORTARI, S. R., *Determinação da concentração total de antimônio e de suas espécies químicas em amostras clínicas de pacientes com leishmanioses*, Tese de Doutorado, Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, 2001.
79. MOTTA, V. T., *Bioquímica clínica para o laboratório princípios e interpretações*, Médica Missau: Porto Alegre, 2003.
80. NASCENTES, C. C., ARRUDA, M. A. Z., NOGUEIRA, A. R. A., NÓBREGA, J. A., Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta* **64** (2004) 912-917.
81. NASCENTES, C. C., KAMOGAWA, M.Y., FERNANDES, K. G., ARRUDA, M. A. Z., NOGUEIRA, A. R. A., NÓBREGA, J. A., Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **60** (2005) 749-753.
82. NETO, J. A. G., OLIVEIRA, A. P., NÓBREGA, J. A., CORREIA, P. R. M., OLIVEIRA, P. V., Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry using arsenic as internal standard, *Food Chemistry* **93** (2005) 355-360.

83. NETO, J. A. G., FRESCHI, C. D., FRESCHI, G. P. G., NÓBREGA, J. A., OLIVEIRA, P. V., Arsenic as internal standard to correct for interferences in the determination of antimony by hydride generation in situ trapping graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **60** (2005) 759-763.
84. NETO, J. A. G., OLIVEIRA, S. R., Evaluation of Bi as internal standard to minimize matrix effects on the direct determination of Pb in vinegar by graphite furnace atomic absorption spectrometry using Ru permanent modifier with co-injection of Pd/Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, *Spectrochim. Acta Part B* (in press), doi: 10.1016/j.sab.2007.06.007.
85. NETO, J. A. G., CORREIA, P. R. M., OLIVEIRA, P. V., NÓBREGA, J. A., Silver as internal standard for simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. Atomic. Spectrom.* **19** (2004) 917-922.
86. NÓBREGA, J. A., NASCENTES, C. C., KAMOGAWA, M. Y., FERNANDES, K. G., ARRUDA, M. A. Z., NOGUEIRA, A. R. A., Direct determination of Cu, Mn, Pb and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* **60** (2005) 749-753.
87. NÓBREGA, J. A., TREVISAN, L. C., ARAÚJO, G. C. L., NOGUEIRA, A. R. A., Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochim. Acta Part B* **57** (2002) 1855-1876.
88. *Norma Regulamentadora 7 - Programa de controle médico de saúde ocupacional (107.000-2)*, disponível em [http://www010.dataprev.gov.br/sislex/paginas/05/mtb/7.htm#quadro\\_I](http://www010.dataprev.gov.br/sislex/paginas/05/mtb/7.htm#quadro_I), acessado dia 05.07.07.

89. NOWKA, R., MÜLLER, H., Direct analysis of solid samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry with a transversely heated graphite atomizer and D<sub>2</sub>-background correction system (SS GF-AAS), *Fresenius J. Anal. Chem.* **359** (1997) 123-137.
90. OGA, S., *Fundamentos de Toxicologia*, Atheneu: São Paulo, 2003. 474p.
91. OLIVEIRA, E., Sample Preparation for atomic spectrometry: evolution and future trends, *J. Braz. Chem. Soc.* **2** (2003) 174-182.
92. PALLOTTI, G., CONSOLINO, A., BENCIVENGA, B., IACOPONI, V., MORISI, G., TAGGI, T., Lead levels in whole blood of an adult population group from Rome, *Sci. Total Environ.* **31** (1983) 81-87.
93. PEREIRA, M. G., PEREIRA-FILHO, E. R., BERNDT, H., ARRUDA, M. A. Z., Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry *Spectrochim. Acta Part B* **59** (2004) 515-521.
94. Protocolos de Complexidade Diferenciada: 4 série a, *normas e manuais técnicos, Atenção à Saúde dos Trabalhadores Expostos ao Chumbo Metálico Saúde do Trabalhador*, disponível em [http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/trabalhador/pdf/protocolo\\_atencao\\_saude\\_tra\\_b\\_exp\\_chumbo\\_met.pdf](http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/trabalhador/pdf/protocolo_atencao_saude_tra_b_exp_chumbo_met.pdf), acessado dia 19.03.07.
95. REIS, B. V., Revisão: Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento, *Quím. Nova* **19** (1996) 51-58.
96. ROBINSON, J. W., Observations in atomic absorption spectroscopy, *Anal. Chim. Acta* **27** (1962) 465-469.



97. ROSSBACH, M., GROBECKER, K., Homogeneity studies of reference materials by solid sampling – AAS and INAA, *Accred. Qual. Assur.* **4** (1999) 498-503.
98. SAIDELLES, A. P. F., *Determinação de cádmio, cobre e chumbo por F AAS e GF AAS em plantas medicinais empregando amostragem direta de sólidos*, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2005.
99. SMITH, F. E., ARSENAULT, E. A., Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, *Talanta* **43** (1996) 1207-1268.
100. TAYLOR, A., ANGERER, J., ARNAUD, J., CLAEYS, F., KRISTIANSEN, J., MAZARRASA, O., MENDITTO, A., PATRIARCA, M., PINEAU, A., VALKONEN S., WEYKAMP, C., Difference in national legislation for the implementation of lead regulations included in the European directive for the protection of the health and safety of workers with occupational exposure to chemical agents (98/24/EC), *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **80** (2007) 254-264.
101. TELISMAN, S., CVITKOVIC, P., PIZENT, A., GAVELLA, M., ROCIC, B., Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men, *Environ. Health Perspect.* **108** (2000) 45-53.
102. TELISMAN, S., JURASOVIÉ, J., PIZENT, A., CVITKOVIÉ. P., Cadmium in the blood and seminal fluid of nonoccupationally exposed adult male subjects with regard to smoking habits, *Int. Arch. Occup. and Environ. Health* **70** (1997) 243-248.
103. TSALEV, D. L., *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice*, CRC: Florida, 1995.

104. VALE, M. G. R., OLESZCZUK, N., Dos SANTOS, W. N. L., Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry – a critical review of the development between 1995 and 2005, *Appl. Spect. Reviews* **41** (2006) 377-400.
105. VANHAECKE, F., RESANO, M., VERSTRAETE, M., MOENS, L., DAMS, R., Multielement analysis of polyethylene using solid sampling electrothermal vaporization ICP mass spectrometry, *Anal. Chem.* **72** (2000) 4310-4316.
106. WATLING, R. J., The use of a slotted quartz tube for the analysis of trace metals in fresh water, *Water SA* **3** (1977) 218-220.
107. WELZ, B., Atomic absorption spectrometry – pregnant again after 45 years, *Spectrochim. Acta Part B* **54** (1999) 2081-2094.
108. WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, Weinheim: Wiley-VHC, 1999. 941p.
109. WILHELM, M., EWERS, U., SCHULZ, C., Revised and new reference value for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine, *Int. J. Hyg. Environ. Health* **207** (2004) 69-73.
110. WILHERM, M., EWERS, U., WITTSIEPE, J., FÜRST, P., HÖLZER, J., EBERWEIN, G., ANGERER, J., MARCZYNSKI, B., RANFT, U., Human biomonitoring studies in North Rhine-Westphalia, Germany, *Int. J. Hyg. Environ. Health* **210** (2007) 307-318.
111. WILLIS, J. B., Atomic absorption spectrometric analysis by direct introduction of powders into the flame, *Anal. Chem.* **47** (1975) 1752-1758.

- 
112. World Health Organization, International programme on Chemical Safety. *Environmental Health Criteria 85 - Inorganic Lead*, disponível em <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc85.htm>, acessado dia 14.03.07.
113. World Health Organization, International programme on Chemical Safety. *Environmental Health Criteria 134 - Cadmium*, disponível em <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc134.htm>, acessado dia 14.03.07.
114. ZEISLER, R., Reference materials for small-sample analysis, *Fresenius J. Anal. Chem.* **360** (1998) 376-379.
115. ZHANG, X., CHEN, D., MARQUARDT, R., KOROPCHAK, J. A., Thermospray sample introduction to atomic spectrometry, *Microchem. J.* **66** (2000) 17-53.
116. ZLOTORZYNSKI, A., The application of microwave radiation to analytical and environmental chemistry, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **25** (1995) 43-76.