

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 Tese de Doutorado

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO POR F AAS E GF AAS EM PLANTAS
MEDICINAIS EMPREGANDO AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS**

elaborada por

Ana Paula Fleig Saidelles

Como requisito parcial para a obtenção do grau de

Doutor em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Érico Marlon de Moraes Flores - UFSM

Adilson Ben da Costa - UNISC

Dirce Pozebon - UFRGS

José Neri Gottfried Paniz – UFSM

Renato Zanella - UFSM

Santa Maria, 29 de julho de 2005.

AGRADECIMENTOS

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

Ao Prof. **Érico Marlon de Moraes Flores**, orientador e grande amigo, pela ajuda, compreensão, incentivo, confiança, colaboração durante toda a caminhada e pelo exemplo de dedicação ao ensino e a pesquisa científica.

Aos Profs **Valderi L. Dressler** e **Dirce Pozebon**, pela amizade, incentivos, colaboração e pela participação na banca de Exame de Qualificação.

Ao Prof **José Neri Gottfried Paniz** pela exemplar dedicação a hialotecnica e pela participação na banca de Exame de Qualificação.

Aos Profs. **Adilson Ben da Costa**, **Dirce Pozebon**, **José Neri Gottfried Paniz** e **Renato Zanella** pela valiosa contribuição para enriquecimento deste trabalho e participação na banca da Prova de Defesa de Tese.

Aos grandes amigos do setor de Química Industrial e Ambiental do Departamento de Química da UFSM, pela amizade e, em especial a **Julio Cezar Paz de Mattos**, **Edson Irineu Mulher** e **Juliana Severo Fagundes Pereira**, pelo companheirismo e colaboração prestada durante o desenvolvimento deste estudo.

**DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO POR F AAS E GF AAS EM
PLANTAS MEDICINAIS EMPREGANDO AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS**

por

ANA PAULA FLEIG SAIDELLES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de DOUTOR EM QUÍMICA.

Santa Maria, RS – Brasil

2005

O conselho

Quando te decidires: segue!
Não esperes que o vento
Cubra de flores o caminho
Nem sequer esperes o caminho.
Cria-o! Faze-o tu mesmo.
E parte... Sem lembrar
Que outros passos pararam
Que outros olhos ficaram
Te olhando seguir.

Prado Veppo

Dedico este trabalho as pessoas especiais que sempre me apoiaram e incentivaram.

Geromildo Sauzen Saidelles (in memorian)

Ida Fleig Saidelles

Maria Isabel Fleig Saidelles

Julio Cesar Fleig Saidelles

Sônia Rossetti

Fabio Luiz Fleig Saidelles

Rosane do Amaral Peixoto

Guilherme Peixoto Saidelles

Elci de Mello Campodonio

Adão Campodonio

Cornelia Fleig Rubin

Em especial dedico este trabalho ao meu companheiro ***Rogenio de Mello Campodonio*** pelo incentivo, compreensão e carinho em todos os momentos.

SUMÁRIO

| | |
|---|-------------|
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| LISTA DE TABELAS..... | xvii |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS..... | xix |
| RESUMO..... | xx |
| ABSTRACT..... | xxii |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1. Objetivo..... | 2 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA..... | 3 |
| 2.1. CÁDMIO, COBRE E CHUMBO: ASPECTOS AMBIENTAIS E TOXICOLÓGICOS..... | 4 |
| 2.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA - GENERALIDADES..... | 6 |
| 2.2.1. Preparo das amostras para análise de sólidos..... | 7 |
| 2.2.2. Precisão e exatidão..... | 9 |
| 2.2.2.1. Influência do tamanho de partícula..... | 9 |
| 2.2.2.2. Influência da homogeneidade da amostra..... | 10 |
| 2.2.2.3. Incertezas da técnica de análise de sólidos..... | 12 |
| 2.2.2.4. Calibração..... | 13 |
| 2.3 ANÁLISE DIRETA DE SÓLIDOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (DSS-GF AAS).... | 14 |
| 2.3.1 Histórico da DSS-GF AAS..... | 15 |
| 2.3.2 Correção de fundo..... | 15 |
| 2.3.3 Sistema comercial de introdução direta de amostras..... | 16 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.4 Sistemas de atomização..... | 17 |
| 2.3.4.1 <i>Cup cuvette</i> | 18 |
| 2.3.4.2 Tubo de grafite com plataforma de L'vov..... | 19 |
| 2.3.4.3 <i>Cup atomizer</i> | 20 |
| 2.3.4.4 Técnica <i>Cup-in-tube</i> | 20 |
| 2.3.4.5 Atomizador <i>Carbon rod</i> | 20 |
| 2.3.4.6 Atomizador <i>Graphite Probe</i> | 21 |
| 2.3.4.7 Atomizador <i>second surface</i> | 21 |
| 2.3.5. Uso de Modificadores químicos em DSS-GF AAS..... | 22 |
| 2.3.6. Aplicações da DSS-GF AAS..... | 23 |
| 2.4 ANÁLISE DE SÓLIDOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA (SS-F AAS)..... | 25 |
| 2.4.1 Sistemas de introdução de amostras..... | 25 |
| 2.4.2 Aplicações da SS-F AAS..... | 34 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 36 |
| 3.1. Instrumentação..... | 37 |
| 3.2. Reagentes..... | 39 |
| 3.3. Materiais diversos..... | 40 |
| 3.4 Sistemas utilizados para a análise de sólidos..... | 41 |
| 3.4.1 Sistema para DSS-GF AAS..... | 41 |
| 3.4.2 Sistema para SS-F AAS..... | 42 |
| 3.5 Amostras..... | 44 |
| 3.6 Preparo das pastilhas..... | 45 |
| 3.7 Decomposição das amostras..... | 46 |

| | |
|---|-----------|
| 3.8 Calibração..... | 46 |
| 3.8.1 Análise das amostras por DSS-GF AAS..... | 46 |
| 3.8.2 Análise das amostras por SS-F AAS..... | 47 |
| 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS..... | 49 |
| 4.1. Determinação de cádmio, cobre e chumbo em plantas por GF AAS após decomposição ácida das amostras..... | 50 |
| 4.2 Determinação por DSS-GF AAS..... | 51 |
| 4.2.1 Otimização da temperatura de pirólise e atomização..... | 51 |
| 4.2.2 Estudo da quantidade de massa introduzida no atomizador (DSS-GF AAS)..... | 56 |
| 4.2.3 Considerações finais quanto às condições de operação do sistema DSS-GF AAS..... | 59 |
| 4.2.4 Técnicas de calibração do instrumento para a determinação de cádmio, cobre e chumbo em amostras de vegetais por DSS-GF AAS..... | 61 |
| 4.2.5. Determinação de cádmio, cobre e chumbo em amostras de plantas medicinais por DSS-GF AAS..... | 64 |
| 4.3 Determinação de cádmio, cobre e chumbo por SS-F AAS..... | 66 |
| 4.3.1. Adequação das condições de operação do sistema SS-F AAS..... | 66 |
| 4.3.2. Posicionamento do sistema de atomização..... | 67 |
| 4.3.3. Vazão de oxigênio no sistema | 69 |
| 4.3.4. Estequiometria da chama | 75 |
| 4.3.5 Relação entre a proporção de grafite e amostra..... | 80 |
| 4.3.6 Estudo da quantidade de massa introduzida no atomizador..... | 86 |
| 4.3.7 Considerações finais quanto às condições de operação | 88 |

| | |
|--|------------|
| 4.3.8 Técnicas de calibração para a determinação de cádmio, cobre e chumbo em amostras de vegetais por SS-F AAS..... | 93 |
| 4.3.9 Determinação de cádmio, cobre e chumbo em amostras de plantas medicinais por SS-F AAS..... | 96 |
| 5. CONCLUSÕES..... | 99 |
| 6. SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS..... | 101 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 102 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Formas de introdução de amostras no atomizador em espectrometria atômica (adaptado de Sturgeon ⁸²)..... | 6 |
| Figura 2. Sistema de introdução de amostras sólidas: 1 - módulo principal fixado no compartimento do forno de grafite, 2 - pinça metálica conectada no módulo principal usada para sustentar a plataforma de grafite, 3 - plataforma de grafite, 4 – forno de grafite..... | 17 |
| Figura 3. Sistemas de atomização por DSS-GF AAS. a) <i>cup cuvette</i> , b) tubo de grafite com plataforma de L'vov, c) <i>boat</i> , d) <i>microboat</i> , e) <i>cup atomizer</i> , f) <i>cup-in-tube</i> , g) <i>carbon rod</i> , h) <i>graphite probe</i> , i) <i>second surface</i> | 18 |
| Figura 4. Sistema para a determinação de chumbo em sangue (adaptado de Delves ²⁸). A - tubo de níquel, B – suporte, C - cadinho de níquel, D – suporte de fio de platina, E – parafuso de ajuste vertical, F – parafuso de ajuste angular, G e H – limitador (batente), J e J¹ – braços giratórios..... | 27 |
| Figura 5. Sistema para SS-F AAS utilizando uma cápsula de grafite poroso para a vaporização de amostras sólidas e posterior atomização na chama adaptado de L'vov ⁵¹ e Costa ²⁴ | 28 |
| Figura 6. Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras, conectado ao queimador através da câmara de nebulização (adaptado de Campos <i>et al.</i> ¹⁸ e Costa ²⁴) | 30 |
| Figura 7. Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras e, atomização em cela de quartzo posicionada diretamente sobre a chama do queimador (adaptado de Campos <i>et al.</i> ¹⁹ e Costa ²⁴)..... | 31 |

- Figura 8.** Sistema para SS-F AAS proposto por Flores *et al.*³¹ O detalhe permite a visualização do fluxo de ar na câmara de amostragem. FL – fluxômetro, F1 – fluxo de ar para a chama, F2 – fluxo de ar para a câmara de amostragem, CA – câmara de amostragem, RA – recipiente de amostragem, CQ – cela de quartzo, V1 e V2 – válvulas..... 32
- Figura 9.** Vista parcial do sistema para SS-F AAS instalado em um espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena)..... 33
- Figura 10.** a) Diagrama esquemático da prensa utilizada para a produção das pastilhas e b) fotografia da prensa..... 41
- Figura 11.** Análise direta de sólidos por GF AAS. a) sistema de introdução de amostras sólidas mod. AAS5 SOLID. 1 – módulo principal fixado no compartimento do forno de grafite, 2 – pinça metálica conectada no módulo principal, 3 – plataforma de grafite, 4 - forno de grafite. b) sistema instalado. 42
- Figura 12.** a) Detalhes do sistema de introdução de amostra na chama e b) ilustração do sistema utilizado neste estudo (adaptado de Costa²⁴). a) feixe óptico, b) queimador, c) abertura para introdução da amostra, d) êmbolo de quartzo, e) mangueira flexível e f) fluxo de O₂..... 43
- Figura 13.** Sistema de amostragem de sólido empregado neste estudo instalado no espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena)..... 44
- Figura 14.** Amostras misturadas com grafite e prensadas, sob a forma de pastilha..... 45
- Figura 15.** Fluxograma dos procedimentos utilizados..... 48
- Figura 16.** Perfil do sinal analítico (em vermelho) e sinal de fundo (em azul) para cádmio em carvalhinho, sem o uso de modificador, em função da temperatura de atomização (Ta). A temperatura de pirólise foi mantida em

| | |
|---|----|
| 650 °C..... | 52 |
| FIGURA 17. Curvas de temperatura de pirólise e atomização de cádmio, em carvalhinho, com 10 µg de Pd como modificador por DSS-GF AAS. Ta e Tp são as correspondentes temperaturas de atomização e pirólise, respectivamente..... | 53 |
| Figura 18. Curvas de temperaturas de pirólise e atomização de chumbo, em carvalhinho; a) sem modificador químico e b) com 10 µg de Pd como modificador, em DSS-GF AAS. Ta e Tp são as correspondentes as temperaturas de atomização e pirólise, respectivamente..... | 54 |
| Figura 19. Curvas de temperatura de pirólise e atomização de cobre obtidas por DSS-GF AAS, com corretor de fundo baseado no efeito Zeeman. Ta e Tp são as correspondentes temperaturas de atomização e pirólise, respectivamente..... | 56 |
| Figura 20. Relação da massa de amostra com a massa característica de (a) cádmio e (b) cobre medidas por DSS-GF AAS. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de quatro replicatas..... | 57 |
| Figura 21. Relação da massa de amostra com a massa característica de chumbo, a) sem modificador químico e b) com 10 µg de Pd como modificador químico, por DSS-GF AAS. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de quatro replicatas..... | 58 |
| Figura 22. Perfil do sinal de cádmio obtido por DSS-GF AAS. Em vermelho são mostrados, os sinais analíticos e em azul os sinais de fundo..... | 60 |
| Figura 23. Curva de calibração, obtida por DSS-GF AAS absorvância integrada vs massa de a) cádmio e b) cobre, utilizando soluções de referência e CRM..... | 62 |
| Figura 24. Curvas de calibração absorvância integrada vs massa de chumbo (a) sem modificador químico e (b) com modificador químico, | |

| | |
|---|----|
| obtidas por DSS-GF AAS..... | 63 |
| Figura 25. Influência da distância entre a cela de quartzo e o feixe óptico na massa característica de a) cádmio e b) cobre e chumbo. As medições foram feitas com vazão de O ₂ de 1 L min ⁻¹ (cádmio), 2 L min ⁻¹ (cobre) e 1,5 L min ⁻¹ (chumbo) e chama ar+acetileno (610 +100 L h ⁻¹). A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite (cádmio e cobre) e 50% de amostra: 50% de grafite (chumbo).(n= 5)..... | 68 |
| Figura 26. Influência da vazão de O ₂ sobre a massa característica e sinal de fundo, na determinação de cádmio. As medidas foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar + acetileno (610 +100 L h ⁻¹). A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. (n = 5)..... | 70 |
| Figura 27. Perfil do sinal do cádmio sob diferentes vazões de O ₂ no sistema. As medidas foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar+acetileno (610 +100 L h ⁻¹). A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul o sinal de fundo..... | 71 |
| Figura 28. Influência da vazão de O ₂ sobre a massa característica de cobre e o sinal de fundo. As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar+acetileno (610 +100 L h ⁻¹). A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. (n=5) | 72 |
| Figura 29. Perfil do sinal do cobre sob diferentes vazões de O ₂ . As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar+acetileno (610 +100 L h ⁻¹). A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul o sinal de fundo..... | 73 |
| Figura 30. Influência da vazão de O ₂ sobre o valor de massa característica de chumbo e sinal de fundo. As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar+acetileno (610 +100 L | |

- h^{-1}). A proporção foi de 50% de amostra : 50% de grafite. (n = 5)..... 74
- Figura 31.** Perfil do sinal do chumbo sob diferentes vazões de O_2 . As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e em chama ar+acetileno ($610 +100 L h^{-1}$) A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado, o sinal analítico e em azul o sinal de fundo..... 75
- Figura 32.** a) Influência da estequiometria da chama sobre a massa característica de cádmio e o sinal de fundo. (n = 5) b) Perfil do sinal de cádmio e do fundo. As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e vazão de O_2 de $1 L min^{-1}$. A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 77
- Figura 33.** a) Influência da estequiometria da chama sobre a massa característica de cobre e o sinal de fundo (n = 5). b) Perfil do sinal de cobre e de fundo em diferentes estequiometrias As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e vazão de O_2 de $2 L min^{-1}$. A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 78
- Figura 34.** a) Influência da estequiometria da chama sobre a massa característica de chumbo e o sinal de fundo (n = 5). b) Perfil do sinal de chumbo e de fundo em diferentes estequiometrias As medições foram feitas com cela posicionada a 4 mm do feixe óptico e vazão de O_2 de $1,5 L min^{-1}$. A proporção foi de 50% de amostra : 50% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 79
- Figura 35.** Influência da proporção amostra : grafite sobre a massa característica de a) cádmio, b) cobre e c) chumbo (n = 5). As medições foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em chama ar+acetileno ($610 +100 L h^{-1}$) e com vazão de O_2 de $1,0 L min^{-1}$ (cádmio), $2,0 L min^{-1}$ (cobre) e $1,5 L min^{-1}$ (chumbo)..... 81

(cádmio), 2,0 L min⁻¹ (cobre) e 1,5 L min⁻¹ (chumbo).....

Figura 36. Perfil do sinal do cádmio e do fundo em diferentes proporções amostra:grafite. As medições foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em vazão de O₂ de 1 L min⁻¹ e em chama ar+acetileno (610 +100 L h⁻¹). Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 83

Figura 37. Perfil do sinal do cobre e do fundo em diferentes proporções amostra:grafite. As medições foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em vazão de O₂ de 2 L min⁻¹ e em chama ar+acetileno (610 +100 L h⁻¹). Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 84

Figura 38. Perfil do sinal do chumbo e do fundo em diferentes proporções amostra:grafite. As medições foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em vazão de O₂ de 1,5 L min⁻¹ e em chama ar+acetileno (610 +100 L h⁻¹). Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 85

Figura 39. Relação massa de amostra e massa característica de a) cádmio, b) cobre e c) chumbo (n = 5). As medições foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em chama ar+acetileno (610 +100 L h⁻¹) e vazão de O₂ de 1 L min⁻¹ (cádmio), 2 L min⁻¹ (cobre) e 1,5 L min⁻¹ (chumbo). A proporção foi de 25% de amostra: 75% de grafite. (cádmio e cobre) e 50% de amostra : 50% de grafite(chumbo)..... 87

Figura 40. Sinal de cádmio obtido por SS-F AAS. As medidas foram feitas com a cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em chama ar+acetileno (610 +100 L h⁻¹) e vazão de O₂ de 1 L min⁻¹. A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 90

Figura 41. Sinais de cobre por SS-F AAS. As medições foram feitas com

cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em chama ar+acetileno ($610 + 100 \text{ L h}^{-1}$) e vazão de O_2 de 2 L min^{-1} . A proporção foi de 25% de amostra : 75% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 91

Figura 42. Sinais de chumbo por SS-F AAS. As medições foram feitas com cela de quartzo posicionada a 4 mm do feixe óptico, em chama ar+acetileno ($610 + 100 \text{ L h}^{-1}$) e vazão de O_2 de $1,5 \text{ L min}^{-1}$. A proporção foi de 50% de amostra : 50% de grafite. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 92

Figura 43. Sinais de cádmio, cobre e chumbo no branco. Em vermelho é mostrado o sinal analítico e em azul, o sinal de fundo..... 93

Figura 44. Curva analíticas típicas para (a) cádmio, (b) cobre e (c) chumbo, obtidas com o sistema SS-F AAS utilizado neste trabalho, utilizando-se pastilhas de grafite + solução de referência e diferentes massas de pastilhas: 25% CRM : 75% grafite para cádmio e cobre e 50% CRM : 50% grafite para chumbo..... 95

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Aplicações da DSS-GF AAS para a determinação de cádmio, cobre e chumbo..... | 20 |
| Tabela 2. Aplicações da SS-F AAS para a determinação de cádmio, cobre, e chumbo..... | 35 |
| Tabela 3. Programa de temperatura e tempo para as determinações por DSS-GF AAS..... | 38 |
| Tabela 4. Parâmetros das lâmpadas de cátodo oco e do monocromador..... | 38 |
| Tabela 5. Programa de temperatura e tempo para as determinações por GF AAS, após decomposição da amostra..... | 39 |
| Tabela 6. Concentração de cádmio, cobre e chumbo nos materiais de referência certificados utilizados neste estudo..... | 44 |
| Tabela 7. Programa do forno de microondas para decomposição das amostras..... | 46 |
| Tabela 8. Determinação de cádmio, cobre e chumbo por GF AAS após decomposição das amostras em meio ácido (n = 4, valores em $\mu\text{g g}^{-1}$)... | 50 |
| Tabela 9. Condições de operação do sistema DSS-GF AAS..... | 59 |
| Tabela 10. Concentração de cádmio nas amostras de plantas medicinais, determinada por DSS-GF AAS, com modificador químico, Pd. A) calibração com CRM e B) calibração com solução de referência. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de cinco replicatas..... | 64 |
| Tabela 11. Concentração de cobre nas amostras de plantas | |

| | |
|--|----|
| medicinais, determinada por DSS-GF AAS. A) calibração com CRM e B) calibração com solução de referência. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de cinco replicatas..... | 65 |
| Tabela 12. Parâmetros de mérito do método de análise por DSS-GF AAS, para a determinação de cádmio e cobre..... | 66 |
| Tabela 13. Distribuição dos constituintes utilizados na mistura para obtenção das pastilhas..... | 80 |
| Tabela 14. Condições de operação do sistema SS-F AAS utilizado neste estudo..... | 88 |
| Tabela 15. Concentração de cádmio nas amostras, com determinação pelo sistema por SS-F AAS. A) calibração com grafite + CRM e B) calibração com grafite + solução de referência. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de cinco replicatas..... | 96 |
| Tabela 16. Concentração de cobre nas amostras, com determinação pelo sistema por SS-F AAS. A) calibração com grafite + CRM e B) calibração com grafite + solução de referência. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de cinco replicatas..... | 97 |
| Tabela 17. Concentração de chumbonas amostras, com determinação pelo sistema por SS-F AAS. A) calibração com grafite + CRM e B) calibração com grafite + solução de referência. Os valores representam a média e o correspondente desvio padrão de cinco replicatas..... | 97 |
| Tabela 18. Parâmetro de mérito do sistema SS-F AAS, para a determinação de cádmio, cobre e chumbo..... | 98 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*.
2. BCR, *Bureau Community of Reference*.
3. CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*.
4. DSS-GF AAS, análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês *Direct Solid Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*.
5. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry* SS-F AAS, análise de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama, do inglês *Solid Sampling Flame Atomic Absorption Spectrometry*.
6. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*.
7. HCL, lâmpada de cátodo ôco, do inglês *Hollow Cathode Lamp*.
8. LD, limite de detecção.
9. LQ, limite de quantificação.
10. m_0 , massa característica (massa de analito que produz absorvância integrada igual a 0,0044 s).
11. m/v, massa por volume.
12. NIST, *Nacional Institute of Standarts and Technology*.
13. RSD, desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Desviation*.
14. SD, desvio padrão do inglês *Relative Standard*.
15. v/v, volume por volume.

Determinação de cádmio, cobre e chumbo por espectrometria de absorção atômica com chama e forno de grafite em plantas medicinais empregando amostragem direta de sólidos

Este estudo teve como objetivo principal a utilização de sistemas para a análise direta de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (DSS-GF AAS) e com chama (SS-F AAS) para a determinação de cádmio, cobre e chumbo em amostras de plantas medicinais.

Para o procedimento empregando DSS-GF AAS a amostra sólida em pó foi introduzida, diretamente, no sistema de atomização. Para a determinação de cádmio e chumbo, foi empregado Pd como modificador químico e foi utilizado o corretor de fundo com lâmpada de deutério. Para cobre foi empregado um corretor baseado no efeito Zeeman. Para a obtenção das curvas analíticas foram utilizadas soluções de referência e materiais de referência certificados. Para o sistema DSS-GF AAS foram utilizadas massas de amostra de até 0,9 mg, resultando em um limite de quantificação de 0,11 e 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ e massas características de 1 e 70 pg de cádmio e cobre, respectivamente. Não foi possível a determinação de chumbo por DSS-GF AAS, devido à dificuldades de calibração.

Para a determinação de cádmio, cobre e chumbo, por SS-F AAS, as amostras foram misturadas com grafite, prensadas na forma de pastilhas e, após, introduzidas em um sistema especial para a introdução de sólidos no atomizador (chama ar+acetileno). Oxigênio foi introduzido na cela de quartzo para auxiliar a combustão da pastilha (mistura de amostra e grafite). Para todos os elementos foi empregado o corretor de fundo com lâmpada de deutério. Para a obtenção da curva analítica foram utilizadas soluções de referência e materiais de referência certificados. Para este sistema foi possível a utilização de até 50 mg de amostra, resultando em um limite de quantificação

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.

Pode-se concluir que os dois sistemas utilizados apresentam vantagens, como a boa frequência analítica para determinação por SS-F AAS e menor limite de detecção para DSS-GF AAS. Entretanto, o limite de detecção do sistema por SS-F AAS é suficiente para o controle de qualidade dos metais estudados em plantas medicinais. O sistema DSS-GF AAS, apesar dos melhores limites de detecção em relação ao sistema SS-F AAS, apresentou como principal desvantagem o custo instrumental relativamente maior. Contudo, ambos os sistemas são adequados para a determinação por DSS-GF AAS (cádmio e cobre) e por SS-F AAS (cádmio, cobre e chumbo) em amostras de plantas medicinais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Autor: Ana Paula Fleig Saidelles

Orientador: Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores

Título: Determinação de cádmio, cobre e chumbo por F AAS e GF AAS em plantas medicinais empregando amostragem direta de sólidos.

Tese de Doutorado em Química – Área de concentração: Química Analítica.

ABSTRACT

Determination of cadmium, copper and lead in medicinal plants by flame atomic absorption spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry using direct solid sampling

The main objective of this study was to use alternative systems for the analysis of solids by graphite furnace atomic absorption spectrometry (DSS-GF AAS) and with flame (SS-F AAS) for cadmium, copper and lead in determination of medicinal plants samples.

For DSS-GF AAS procedure the solid sample was introduced, directly, into the atomizer. For cadmium and lead determinations Pd was used as chemical modifier and a deuterium background corrector system was employed. For copper determination it was used a Zeeman effect background correction system. The calibration was performed against aqueous standards and certified reference materials. Sample masses up to 0.9 mg were applied for DSS-GF AAS, procedure a limits of quantification of 0.11 and 0.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ and characteristic masses of 1 and 70 pg were obtained for cadmium and copper, respectively. Lead determination by DSS-GF AAS was not possible, due to the different sensitivities between the samples.

For cadmium, copper and lead the determination by SS-F AAS the samples were mixed with graphite and pressed in the pastille form. The pastilles were introduced in a system that consists basically into a quartz cell adapted above the air-acetylene flame. Oxygen was introduced in the quartz cell to improve the pastille (sample and graphite mixture) combustion. All the elements were determinate using a deuterium background correction system. Calibration was performed against aqueous standards and certified reference materials. With this system it was possible to use sample masses up to 50 mg, limits of quantification of 0.03, 0.52 and 0.34 $\mu\text{g g}^{-1}$ and characteristic masses of 0.05, 0.9 and 1 ng were obtained for cadmium, copper and lead, respectively.

It can be concluded that both used systems presents advantages, as high sample throve put for SS-F AAS and 'better detection limits for DSS-GF AAS. However, the detection limit obtained for the SS-F AAS system it is enough for the quality control of the metals studied in medicinal plants. For DSS-GF AAS procedure the main disadvantage is the relatively high instrumental cost, however, better detection limits were obtained in relation to the system by SS-F AAS. However, both systems were adequate for cadmium, copper and lead determinations in medicinal plants samples.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
GRADUATED PROGRAM IN CHEMISTRY

Author: Ana Paula Fleig Saidelles

Advier: Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores

Title: Determination of cadmium, cupper and lead in plants by flame atomic absorption spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry using solid direct sampling.

Doctor Thesis in Chemistry – Analytical Chemistry.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade que diversas plantas são usadas para fins terapêuticos. Nos últimos anos, o número de produtos derivados de plantas medicinais, artesanais ou industrializadas, tem aumentado consideravelmente. Entretanto, com o aumento da contaminação ambiental torna-se necessário um controle de qualidade mais rígido dos produtos vegetais. Desta forma, técnicas sensíveis, que possibilitem a determinação de elementos em quantidades da ordem de ng g^{-1} são necessárias. Normalmente, vários elementos são investigados, por exemplo, cádmio, cobre e chumbo. Cádmio e chumbo são determinados, principalmente, por serem tóxicos ao organismo humano, mesmo em baixas concentrações.

Significativos avanços instrumentais foram feitos, nos últimos anos, no sentido de melhorar o desempenho e os limites de detecção de diversas técnicas analíticas. Entretanto, para a maioria delas, ainda é necessário que as amostras sejam introduzidas na forma de solução para a quase totalidade dos equipamentos. Sob este aspecto, a análise de amostras sólidas pode ser uma alternativa para minimizar possíveis problemas decorrentes da etapa de solubilização ou de decomposição das mesmas, redução da quantidade de reagentes

utilizados, limites de detecção insuficientes e, principalmente, redução do tempo de análise, entre outras.

A técnica de análise de sólidos pode ser dividida em análise direta de sólidos e análise de suspensões. Para estas técnicas, algumas características importantes podem ser destacadas, como melhor limite de detecção, menor risco de contaminação da amostra e perda do analito, e mais fácil preparo das amostras, além de reduzir o uso de reagentes corrosivos e tóxicos e seus correspondentes efluentes. Sob este aspecto, a análise direta de sólidos distingue-se como uma possibilidade promissora de introdução de amostras para as técnicas espectrométricas. Na espectrometria de absorção atômica, a análise de sólidos pode ser feita mediante atomizadores com forno de grafite (DSS-GF AAS) e com chama (DSS-F AAS e SS-F AAS). O sistema de DSS-GF AAS apresenta, como principais características, a facilidade de introdução da amostra e limite de detecção muito baixo. Com atomizadores por chama, podem ser citadas as seguintes vantagens: maior frequência analítica e menor custo operacional e de manutenção. Atualmente, os sistemas de SS-F AAS descritos na literatura possibilitam a introdução de massas superiores a 2 mg, o que torna esse procedimento menos susceptível a problemas de heterogeneidade. Sob este aspecto, a utilização de massas maiores de amostra possibilita melhorar o limite de detecção e precisão.

1.1 Objetivo

Este estudo teve por objetivo principal a utilização de um sistema de DSS-GF AAS e o desenvolvimento de metodologia de análise por SS-F AAS aplicados à determinação de cádmio, cobre e chumbo em plantas medicinais. Para a introdução das amostras sólidas no atomizador do sistema DSS-GF AAS foi utilizado um acessório específico para sistemas eletrotérmicos de atomização. No sistema de SS-F AAS as amostras foram introduzidas em uma cela de quartzo disposta sobre a chama de um espectrômetro de absorção atômica através de pastilhas feitas com mistura de amostra e grafite. Os resultados obtidos com ambos os sistemas foram comparados aos obtidos por decomposição ácida das amostras e posterior determinação por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica apresentada neste capítulo está dividida em duas partes. Na primeira, são apresentados aspectos ambientais e toxicológicos para cádmio, cobre e chumbo. A segunda parte é subdividida em três itens principais: *i*) características gerais da espectrometria de absorção atômica com análise de amostras sólidas, *ii*) atomizadores com forno de grafite e *iii*) atomizadores com chama.

2.1 Cádmio, cobre e chumbo: aspectos ambientais e toxicológicos

Atualmente, existe uma grande preocupação com efeitos, a curto e médio prazo, que muitos poluentes químicos possam ter sobre a saúde pública e ao meio ambiente, pois a crescente industrialização, nas últimas décadas, tem exposto animais e vegetais a diversos elementos potencialmente tóxicos ⁷².

Nos últimos anos, tem havido um aumento significativo na utilização de plantas na medicina popular, principalmente, com o uso de folhas e caules, na forma de chás, extratos, etc. Desta forma, a presença de metais em concentração elevada, como cádmio, cobre e chumbo, nestas plantas pode causar sérios problemas de saúde humana ⁶⁵.

Os metais, como cádmio e chumbo podem ser complexados e, de maneira semelhante aos essenciais, são facilmente absorvidos e distribuídos nos diversos órgãos do corpo. Desta maneira, os metais tóxicos competem com os elementos essenciais, possibilitando a ocorrência de inibições das funções destes ⁷¹.

O cádmio é um dos metais mais pesquisados, devido ao fato de sua excreção ser lenta com meia-vida biológica longa (décadas) no organismo humano. Vários fatores interferem na absorção de cádmio pelo trato gastrointestinal e, entre eles, incluem-se: tipo de composto, dose, frequência de administração, idade, gravidez e lactação, uso ou não de drogas e interações do cádmio com vários nutrientes ⁷¹.

⁷² Organização Mundial de Saúde, Genebra. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. 1ª edição. Ed. Roca, São Paulo (1998) 108-124.

⁶⁵ Mohamed, A. E., Rashed, M. N. e Mofly, A., *Ecotoxicology Environ. Safety*, 55 (2003) 251-260.

⁷¹ Oga, S., *Fundamentos de toxicologia*. 2ª edição, Ed. Atheneu, São Paulo (2003) pp. 407-419.

⁹⁶ World Health Organization. *Lead: environmental aspects*, Geneva (1989) p. 155 e 279 *Environmental Health Criteria*, 134-135

A ingestão semanal tolerável de cádmio é em torno de $3 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea (FAO/WHO, 1992)⁹⁶. Normalmente, nas plantas são encontradas concentrações inferiores a $0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cd⁵².

O cobre é amplamente distribuído em tecidos biológicos, onde é encontrado na forma de complexos orgânicos. Em seres humanos, o envenenamento agudo por cobre é raro e, normalmente, resulta da ingestão de alimentos ou bebidas contaminadas. A ingestão diária tolerável de cobre é de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea⁷².

A maior parte do chumbo presente no trato gastrointestinal é resultante da ingestão de alimentos e bebidas. Os alimentos e as bebidas que mais contribuem para a ingestão de chumbo variam de país para país, todavia, os principais são a água potável, bebidas, cereais, vegetais e frutas⁷¹. A ingestão diária tolerável de chumbo é de $3,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea (FAO/WHO, 1988)⁹⁶. Normalmente, nas plantas são encontradas concentrações inferiores a $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ de Pb⁵².

A importância de se estudar estes metais deve-se aos seus potenciais efeitos tóxicos ao homem e outros seres vivos, associados à sua ampla liberação no ambiente. Existe um grande interesse no estabelecimento o controle de qualidade em plantas¹. Entretanto, para isso são necessárias técnicas simples e rápidas, capazes de permitir o monitoramento de metais em plantas. Entre as técnicas utilizadas atualmente pode ser salientado o uso da espectrometria de absorção atômica como uma das técnicas analíticas mais adequadas para este tipo de controle.

⁵² Laing, G. D., Tack, F. M. G. e Verloo, M. G., *Anal. Chim. Acta* 497 (2003) 191-198.

⁷² Organização Mundial de Saúde, Genebra. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. 1ª ed. Ed. Roca, São Paulo (1998) 108-124.

⁷¹ Oga, S., Fundamentos de toxicologia. 2ª edição, Ed. Atheneu, São Paulo, (2003) pp 407-419.

⁹⁶ World Health Organization. Lead: environmental aspects, Geneva (1989) pg 106 (Environmental Health Criteria), 85.

¹ Ajasa, A. M. O., Bello, M.O., Ibrahim, A. O., Ogonwande, I. A. e Olawore, N. O., *Food Chem.* 85 (2004) 67-71.

2.2 Espectrometria de absorção atômica – generalidades

Desde a introdução da espectrometria de absorção atômica, em 1955⁹¹, esta tem sido considerada uma técnica versátil permitindo a determinação de diversos elementos nas mais variadas amostras⁹³.

Normalmente, os métodos convencionais de análise, necessitam que as amostras a serem analisadas estejam na forma de solução⁸³. Entretanto, outras formas de introdução de amostra no atomizador têm sido estudadas (Figura 1) como alternativas para sistemas convencionais.

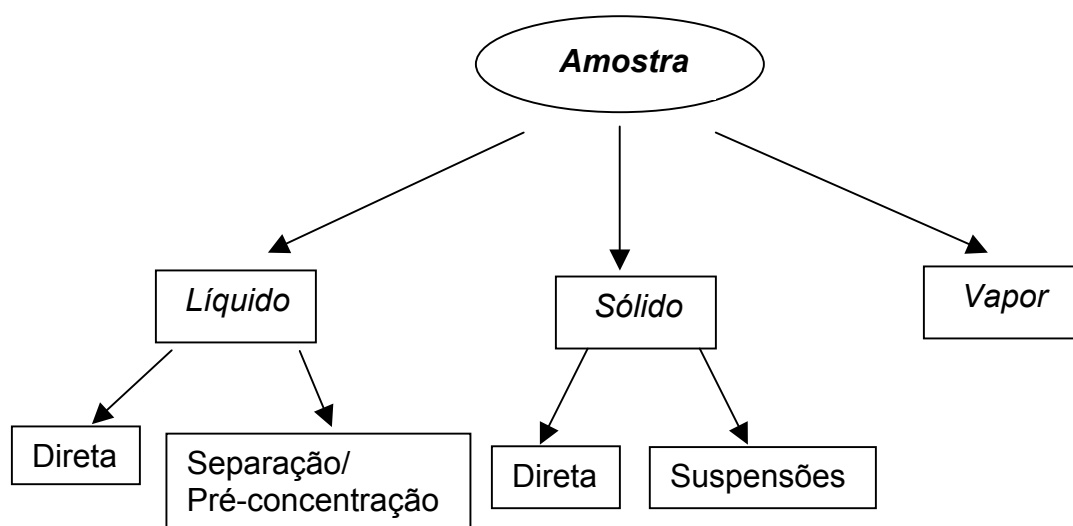


Figura 1. Formas de introdução de amostras no atomizador em espectrometria atômica (adaptado de Sturgeon, 1997)⁸².

A análise de amostras sólidas tem vantagens importantes sobre as outras formas de introdução de amostras, como melhores limites de detecção, requer mínima quantidade de amostra, reduzido tempo da análise e, principalmente, não requer etapas de decomposição, separação e/ou etapas de concentração, diminuindo, portanto, o risco da introdução de contaminantes e perdas do analito¹¹. Por outro lado, a análise

⁹¹ Walsh, A., *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108-117.

⁹³ Welz, B. e Sperling, M., *Atomic absorption spectrometry*, 3rd ed., Wiley-VCH, Weinheim, New York (1999) pp. 15-43.

⁸³ Sulcek, Z. e Povondra, P., *Methods of decomposition in inorganic analysis*, CRC Press, Boca Raton – Florida, (1989) p. 325.

⁸² Sturgeon, R. E., *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1451-1457.

¹¹ Belarra, M. A., Resano, M., Vanhaecke, F. e Moens, L., *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

de sólidos tem sido utilizada quando a amostra é de difícil dissolução ou a baixa concentração do analito impossibilita a diluição⁸².

Os principais problemas encontrados na análise de sólidos, tanto para análise direta, como para suspensão, são^{64,45a}:

- a) alto sinal de fundo;
- b) dificuldades com calibração;
- c) problemas com micropesagem e introdução de amostras;
- d) baixa efetividade dos modificadores de químicos convencionais;
- e) baixa precisão.

Para a análise direta de sólidos é necessário que o instrumento contenha: *i*) eficiente corretor de fundo; *ii*) condições isotérmicas durante a atomização e *iii*) sistema adequado para a introdução da amostra no atomizador⁴⁶.

A análise de sólidos pode ser aplicada mediante dois tipos principais de atomizadores: chama³⁴ e forno de grafite⁷⁰.

2.2.1 Preparo da amostra para análise de sólidos

Normalmente, para a análise direta de amostras sólidas ou sob forma de suspensão são necessárias algumas etapas de pré-tratamento das amostras, antes da introdução das mesmas no sistema de atomização. A maioria destas operações envolve procedimentos predominantemente físicos, incluindo, secagem, cominuição, peneiramento e pesagem^{45a}. Cabe salientar que estes procedimentos também são necessários para análise de soluções. Além disto, o menor número de etapas envolvidas no preparo das amostras proporciona maior rapidez de análise já que, em

⁸² Sturgeon, R. E., *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1451-1457.

⁶⁴ Miller-Ihli, N.J., *J Anal. At. Spectrom.* 3 (1988) 73-81.

⁴⁵ Kurfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a) 4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

⁴⁶ Kurfürst, U., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 316-318.

³⁴ Flores, E. M. M., Saidelles, A. P. F., Flores, E. L. M., Mesko, M. F., Pedroso, M. P., Dressler, V. L., Bittencourt, C. F. e Costa, A. B., *Microchem. J.* 77 (2004) 113-118.

⁷⁰ Nowka R., et al., *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

⁴⁶ Kurfürst, U., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 316-318.

³⁴ Flores, E. M. M., et al., *Microchem. J.* 77 (2004) 113-118.

⁷⁰ Nowka R., et al., *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

muitos casos, a decomposição constitui a etapa mais onerosa e demorada, onde o tempo de preparo raramente é inferior a duas horas ^{45a}.

O procedimento de secagem até massa constante é comum para diversas amostras. Geralmente, esta etapa é utilizada para preservar as amostras da ação microbiana (desenvolvimentos de fungos) durante o armazenamento e, também, para padronizar o teor de umidade de um ou mais lotes de amostras ^{45a}. Materiais biológicos são, geralmente, secos em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C. Alternativamente, a secagem pode ser feita em dessecador, ou por liofilização, processo no qual a amostra é inicialmente congelada e depois seca sob vácuo ⁴⁴.

A redução do tamanho das partículas faz-se necessária para melhorar a homogeneidade, aumentando, também, a relação entre a área superficial e volume da amostra ⁴⁴. O tempo de moagem depende do tamanho de partícula desejado, bem como da composição e quantidade de amostra ⁶². Para minimizar este tempo, pode ser empregada a moagem criogênica ⁹⁷, entretanto esta técnica é relativamente pouco utilizada na maioria dos laboratórios. O tamanho das partículas é um ponto bastante discutido e depende da composição da amostra, influenciando diretamente na precisão e exatidão dos resultados ⁶².

Cabe salientar que, durante estes procedimentos, também pode ocorrer a contaminação da amostra ou perda de analito ^{45a}. A redução do diâmetro das partículas, segundo alguns autores ^{45f}, é considerada muito importante, para assegurar a representatividade das amostras já que, em geral, massas muito pequenas são empregadas, principalmente em análise direta de sólidos.

⁴⁵ Kurfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

⁴⁴ Krug, F. J., *Métodos de decomposição de amostras*. CENA-USP, Piracicaba, 1999 p. 6-8.

⁶² Magalhães, C. E. C. e Arruda, M. A. Z., *Quím. Nova* 21 (1998) 459-466.

⁹⁷ Zeisler, R., *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 376-379.

2.2.2 Precisão e exatidão

Desconsiderando-se os erros que podem surgir durante a pesagem, transferência e introdução da amostra sólida no atomizador, existem outros erros relacionados ao tamanho das partículas, homogeneidade, massa de amostra e concentração e distribuição do analito, que podem levar a menor precisão e exatidão da técnica.

2.2.2.1 Influência do tamanho de partícula

A maioria das amostras necessita de uma etapa de moagem para reduzir suas partículas para tamanhos apropriados. A moagem também é recomendada para materiais sólidos na forma de pó quando o analito está distribuído de forma heterogênea. A moagem melhora o contato entre a superfície do atomizador e a amostra sólida. Portanto, erros associados com o tamanho de partículas podem ser minimizados através da moagem da amostra original.

Para amostras biológicas, Stoepler *et al.*⁸¹, concluíram que o tamanho das partículas não influencia na exatidão mas, somente, na precisão. Entretanto, para materiais refratários (rochas, minerais, etc)⁸¹ e aço⁸⁴, a área superficial das partículas da amostra influencia na vaporização do analito.

Segundo Kürfurst^{45f}, um menor diâmetro das partículas é importante na amostragem de sólidos por AAS para assegurar a representatividade das amostras, bem como para evitar entupimento dos pipetadores quando suspensões são aspiradas através de capilares. Deste modo, os métodos de atomização por chama exigem, normalmente, partículas de diâmetro inferior a 10 µm. Na GF AAS, partículas de 500 µm de diâmetro, ou maiores, podem ser utilizadas quando o analito encontra-se homogeneamente distribuído na amostra. Entretanto, para amostras com distribuição heterogênea do analito, devem-se utilizar partículas com diâmetros inferiores a 50 µm.

⁸¹ Stoepler, M., et al., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 687-691.

⁸⁴ Takada, K. e Hirokawa, K., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 312 (1982) 109-113.

⁴⁵ Kürfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

2.2.2.2 Influência da homogeneidade da amostra

A influência da homogeneidade da amostra é mais crítica quando massas muito pequenas são utilizadas (tipicamente entre 0,1 a 10 mg). Quando se utiliza pequena massa de amostra problemas quanto à pesagem e introdução da amostra no atomizador podem ser verificados ¹⁵.

Lundberg e Frech ⁶¹ estudaram a distribuição de diversos elementos traço em metais e concluíram que é mínima a influência da heterogeneidade na precisão, quando são utilizadas massas da ordem de 2 mg de amostra. Siemer e Wei ⁷⁸ também observaram que a homogeneidade não afetou a precisão dos resultados para massas na ordem de 1 mg, na determinação de Pb em rochas e vidros. Por outro lado, a homogeneidade relativa das amostras sólidas pode ser estimada pela medida da precisão e massa da amostra ^{81,35}. Outros autores ⁷⁰ também destacaram que a homogeneidade das amostras sólidas é o principal fator que influencia na precisão e na exatidão da técnica.

As ligações da matriz da amostra com o analito e as diferentes localizações do analito na partícula sólida podem influenciar no sinal analítico, devido à cinética de atomização ¹⁵. Quando a distribuição da analito não é homogênea, erros de amostragem podem ocorrer. Entretanto, com a moagem da amostra (partículas na ordem de 5 µm) esse erro pode ser reduzido a níveis aceitáveis. Para amostras inorgânicas esse erro não é considerado um problema sério ⁵⁵.

A massa de amostra introduzida no atomizador está associada à concentração de analito na amostra original. O uso de massa maior de amostra melhora a precisão dos resultados ¹⁵. Entretanto, quando a massa utilizada de amostra é muito pequena ¹⁴ existem problemas relacionados com incertezas da pesagem e com a presença de

¹⁵ Bendicho, C. e Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

⁶¹ Lundberg, E. e Frech, W., *Anal. Chim. Acta* 104 (1979) 67-74.

⁷⁸ Siemer, D. D. e Wei, H. Y., *Anal. Chem.* 50 (1978) 147-151.

⁸¹ Stoepler, M., *et al.*, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 687-691.

³⁵ Frech, W. e Baxter, D. C., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 400-404.

⁷⁰ Nowka R., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

⁵⁵ Langmyhr, F. J., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 654-656.

¹⁴ Belarra, M.A., *et al.*, *Spectrochim. Acta B* 52 (1997) 1855-1860.

partículas com alta concentração de analito, conhecidas como “nuggets”, principalmente em amostras nas quais a distribuição do analito é heterogênea⁹⁷.

Segundo Belarra *et al.*¹⁴ poucos trabalhos relataram o efeito da quantidade de massa de amostra introduzida no sistema de atomização. De acordo com os autores, para GF AAS existe uma faixa de trabalho onde a massa característica é constante e os erros são menores. Esta faixa depende do elemento a ser determinado e da matriz da amostra. Neste estudo, foram realizadas 293 determinações de Cu em complexo vitamínico. Os autores observaram que, para Cu, com massas inferiores a 0,5 mg de amostra, foram encontrados valores acima do esperado. Com massas superiores a 1,2 mg os valores são subestimados. Para Pb em PVC, observaram uma menor faixa de trabalho, entre 2,3 a 4,8 mg de amostra.

Nakamura *et al.*⁶⁷ constataram ser impossível determinar vários metais em silicatos, com massas maiores que 1,5 mg de amostra. Os autores relataram que, possivelmente, esse problema pode estar relacionado à inibição da difusão do vapor atômico. Por outro lado, a redução da quantidade de matriz pode minimizar o espalhamento de luz e/ou absorção molecular³⁶.

Embora massas de, aproximadamente, 1 µg já tenham sido utilizadas³, massas menores que 0,1 mg normalmente não são empregadas. Quando a concentração do analito é muito alta, podem ser utilizadas três alternativas: *i*) selecionar uma linha de menor sensibilidade⁷⁶, *ii*) diluir a amostra com sólido apropriado (por ex.: grafite)^{27,30} ou *iii*) aumentar a vazão interna de argônio⁸⁹.

Para a SS-F AAS, quando grandes massas são utilizadas, pode ser observada uma melhora significativa de precisão. Entretanto, alguns autores¹⁹ utilizando a SS-F AAS destacam que com o aumento da massa (> 2 mg) aumenta, também, o sinal de fundo, possivelmente devido à insuficiente combustão da amostra e ao espalhamento da radiação pelo material particulado.

⁹⁷ Zeisler, R., *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 376-379.

¹⁴ Belarra, M. A., *et al*, *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1855-1860.

⁶⁷ Nakamura, T., *et al.*, *Analyst* 120 (1995) 89-94.

³⁶ Fuller, C. W., *Analyst* 101 (1976) 961-965.

³ Alder, J. F. e Batoreu, M. C. C., *Anal Chim. Acta* 155 (1983) 199-207.

⁷⁶ Schlemmer, G. e Welz, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 405-409.

²⁷ De Kersabiec, A. M. e Benedetti, M. F., *Fresenius J. Anal. Chem.* 328 (1987) 342-345.

³⁰ Eames, J. C. e Matousek, J. P., *Anal. Chem.* 52 (1980) E1567-1586.

⁸⁹ Völlkopf, U., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 2 (1987) 455-458.

¹⁹ Campos, R. C., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669 – 673.

Uma alternativa para aumentar a massa de amostra introduzida em sistemas de atomização por chama para análise de sólidos é a produção de pastilhas^{45e}. Desta forma, Costa²⁴ empregou um sistema de introdução de amostra na forma de pastilhas, mostrando que maiores massas de amostra melhoraram significativamente a precisão e exatidão dos resultados, em relação a sistemas que utilizavam massas menores³².

2.2.2.3 Incertezas da técnica de análise de sólidos

Uma das principais limitações da análise direta de sólidos é a incerteza dos resultados¹¹. Assim, valores de RSD inferiores a 15% podem ser considerados satisfatórios para as determinações por análise direta de sólidos ou na forma de suspensões. Valores maiores de desvio padrão são, freqüentemente, relacionados ao tamanho das partículas, o que influencia na vaporização do analito durante a atomização⁷⁰.

Segundo Belarra *et al.*¹⁰, a imprecisão dos resultados pode ser causada pela heterogeneidade da amostra (0,5 a 2 mg) para GF AAS, principalmente quando a massa é pequena. Para amostras de vegetais/botânicas é considerado satisfatório um desvio padrão relativo de 7 a 24% para 0,03 a 0,5 mg de amostra⁵⁵. Em geral, desvios da ordem de 5 a 10% são aceitáveis para elementos presentes em níveis de $1 \mu\text{g g}^{-1}$ e desvios entre 10 a 30% são aceitáveis para elementos em níveis de 1 ng g^{-1} ^{45a}.

Desta forma, para reduzir as incertezas da técnica é necessário aumentar o número de determinações. Normalmente, um aumento de precisão é conseguido quando são feitas 10 determinações. Entretanto, em alguns casos, cinco determinações são suficientes para garantir uma boa precisão⁹.

⁴⁵ Kurfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

³² Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1875-1882.

¹¹ Belarra, M. A., *et al.*, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 828-839.

⁷⁰ Nowka R., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

¹⁰ Belarra, M. A., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 489-494.

⁵⁵ Langmyhr, F.J., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 654-656.

⁹ Belarra, M. A., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 517-552.

2.2.4 Calibração

A calibração é considerada, por alguns autores ^{6,45c}, uma questão essencial, principalmente para análise direta de sólidos, devido aos efeitos negativos causados pela matriz, pois o processo de vaporização e atomização do analito depende da forma com que o mesmo está presente na amostra.

A maior dificuldade da análise direta de sólidos está relacionada à freqüente possibilidade de diferentes interações entre o analito e a matriz. Diferentes tipos de ligações entre o analito e a matriz sólida podem influenciar no sinal do analito, por problemas na vaporização ou cinética de atomização ⁷⁰. A quantificação em análise direta de sólidos é principalmente baseada em modelos de calibração, ou seja são métodos relativos onde é utilizado o sinal analítico (normalmente absorbância integrada) correlacionado com a massa ou concentração de analito na amostra.

A calibração pode ser feita da seguinte maneira: *i*) com materiais de referência certificados sólidos; *ii*) com amostras sólidas sintéticas; *iii*) pelo método de adição de analito ou *iv*) com soluções de referência aquosas ¹⁵.

Idealmente, na análise direta de sólidos, a calibração deve ser feita com materiais de composição similar à matriz da amostra, preferencialmente com similar quantidade de analito, para compensar possíveis erros devido a efeito de matriz ^{45c}. Schlemmer e Welz ⁷⁶ recomendam o emprego de material de referência certificado para assegurar uma calibração eficiente.

A calibração com soluções de referência caracteriza-se pela sua facilidade em aquisição de reagentes e/ou de preparo de soluções de referência. Os métodos de adição de analito, normalmente, utilizam massas iguais da amostra em análise com diferentes concentrações de soluções de referência ^{45c}.

⁶ Baxter, D. C. e Frech, W., *Fresenius J. Anal. Chem.*, 337 (1990) 253-263.

⁷⁰ Nowka R., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

¹⁵ Bendicho, C. e Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

⁴⁵ Kurfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

⁷⁶ Schlemmer, G. e Welz, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 405-409.

²³ Chakrabarti, C.L., *et al.*, *Spectrochim. Acta*, 35B, 1980, 93-105.

Alguns autores salientam o uso das técnicas de calibração, como adição de analito ^{23,26,68}, calibração com soluções de referência aquosas ^{75,7,63,40,86} e calibração com material sintético, para possível correção de matriz ⁶⁹.

Embora a composição da matriz da amostra possa variar, esta diferença é, normalmente, minimizada quando as medidas são feitas em área de pico ^{45b,61}. Ao contrário da análise direta de sólidos, na análise de suspensões é possível, na maioria dos casos, o uso de soluções de referência aquosas para obtenção da curva analítica ⁶².

2.3 Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (DSS-GF AAS)

Para a GF AAS as amostras podem ser introduzidas no forno de grafite de duas maneiras, na forma de suspensão e na forma direta de sólido. A escolha da forma de introdução de amostra sólida depende, exclusivamente, do tipo de amostra a ser analisada¹⁵. Para análise de amostras sólidas em suspensão, além da homogeneização da amostra original, é necessário a estabilização com agentes tixotrópicos ou homogeneização por agitação da suspensão. Após, esta pode ser transferida para o sistema de atomização. Para a análise direta de amostras sólidas, após o tratamento prévio, a amostra é, então, pesada e introduzida no atomizador.

²⁶ Danzer, K., Schrön, W., Dreßler, B. e Jagemann, K. U., *Fresenius J. Anal. Chem.* 361 (1998) 710-713.

⁶⁸ Nimmerfall, G. e Schrön, W., *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 760-767.

⁷⁵ Rettberg, T. M. e Holcombe, J. A., *Anal. Chem.* 58 (1986) 1462-1467.

⁷ Belarra, M. A., Belategui, I., Lavilla, I., Anzano, J. M. e Castillo, J. R., *Talanta* 46 (1998) 1265-1272.

⁶³ Miller-Ihli, N. J., Solid analysis by GFAAS. *Anal. Chem.* 64 (1992) 964A-968A.

⁴⁰ Hinds, M. W., *Spectrochim. Acta Part B* 48 (1993) 435-445.

⁸⁶ Vanhaecke, F., Resano, M., Verstraete, M., Moens, L. e Dams, R., *Anal. Chem.* 72 (2000) 4310-4316.

⁶⁹ Nowka R. e Müller H., *Fresenius J. Anal. Chem.* 359 (1997) 132-137.

⁴⁵ Kurfürst, U., Solid Sample Analysis, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

⁶¹ Lundberg E. e Frech W., *Anal. Chim. Acta* 104 (1979) 75-84.

⁶² Magalhães, C. M. C. e Arruda, M. A. Z., *Quím. Nova* 21 (1998) 459-466.

¹⁵ Bendicho, C. e Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

2.3.1 Histórico da DSS-GF AAS

Um dos primeiros estudos utilizando a análise direta de amostras sólidas foi feito por Boris L'vov, em 1957, para demonstrar os princípios da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, empregando cristais de cloreto de sódio como amostra⁹². Mais tarde, em 1961⁵⁰ foi utilizado um suporte de grafite para introdução da amostra e determinação quantitativa de vários elementos. Desta forma, utilizando este suporte, foi possível aumentar a massa de amostra introduzida e, com isso, o número de átomos livres na fase vapor. Segundo o autor, o método apresentou algumas vantagens como, redução do efeito de matriz e alta sensibilidade.

Desde então, um grande número de trabalhos foram publicados empregando a DSS-GF AAS. Diferentes tipos de amostras vêm sendo estudadas, entre elas, os materiais inorgânicos^{61,66}, sedimentos^{26,69}, amostras biológicas^{75,41,74,8}. Na presente revisão, entretanto, serão destacados alguns trabalhos onde foram determinados os elementos Cd, Cu e Pb, principalmente em amostras biológicas, por análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (DSS-GF AAS).

2.3.2 Correção de Fundo

Um dos problemas citados da análise direta de amostras sólidas é relacionado ao aumento do sinal de fundo, causado pela maior massa de amostra introduzida no tubo de grafite. Esta interferência pode ser relacionada com a absorção molecular ou espalhamento de radiação por partículas no caminho óptico da radiação da fonte^{23,53}. Esse problema não pode ser contornado devido às limitações do corretor de fundo, no caso de corretores à base de lâmpada de deutério (emissão entre 180 a 360 nm),

⁹² Welz, B., *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999) 2081-2094.

⁵⁰ L'vov, B. V., *Spectrochim. Acta* 17 (1961) 761-770.

⁶¹ Lundberg E. e Frech W., *Anal. Chim Acta* 104 (1979) 75-84.

⁶⁶ Müller-Vogt, G., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 51 (1996) 1191-1196.

²⁶ Danzer, K., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 361 (1998) 710-713.

⁶⁹ Nowka R. e Müller H., *Fresenius J. Anal. Chem.* 359 (1997) 132-137.

⁷⁵ Rettberg, T. M. e Holcombe, J. A., *Anal. Chem.* 58 (1986) 1462-1467.

⁴¹ Hirano, Y., *et al.*, *Anal. Sci.*, 17 (2001) i1295-i1297.

⁷⁴ Resano, M. *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* (2004).

⁸ Belarra, M. A., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 58 (2003) 1847-1858.

²³ Chakrabarti, C.L., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 35 (1980) 93-105.

⁵³ Langmyhr, F. J., *Analyst* 104 (1979) 993-1015.

somente compensar certa intensidade de sinal de fundo (máximo de absorbância de até 0,5). Para minimizar o efeito de interferências espectrais, que causam sinais de fundo mais elevados, podem ser usados corretores de fundo baseados no efeito Zeeman (máximos de absorbância maiores que uma unidade)⁶⁸ ou Smith-Hieftje (máximos de absorbância maiores que uma unidade)⁴⁸.

2.3.3 Sistema comercial de introdução direta de amostras

Basicamente, existem quatro sistemas de introdução direta de amostras sólidas no atomizador. Um dos sistemas é uma micro-espátula utilizada para pesar a amostra em uma micro-balança e sua posterior transferência para o atomizador. A sua utilização deve ser feita com cuidado para não ocorrerem problemas como contaminação e a perda da amostra. Normalmente, a micro-espátula é feita de tântalo.

Outros sistemas utilizam um suporte de grafite, para pesagem e atomização, como plataforma, barca, micro-barca, copo, etc., que podem ser adaptados, para determinações por GF AAS. Destes suportes o mais utilizado é o sistema de plataforma de grafite, demonstrado na Figura 2. Nowka *et al.*⁷⁰ determinaram vários metais em amostras de barita por DSS-GF AAS, utilizando este sistema de introdução de amostras sólidas, AAS5 SOLID (SSA5, Analytik Jena GmbH, Germany), onde para Cu e Pb, foram utilizadas temperaturas de pirólise de 950 e 500 °C e temperaturas de atomização de 2300 e 2100 °C, respectivamente.

⁶⁸ Nimmerfall, G e Schrön, W., *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 760-767.

⁴⁸ Kurfürst, U., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322 (1985) 660-665.

⁷⁰ Nowka R., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 533-540.

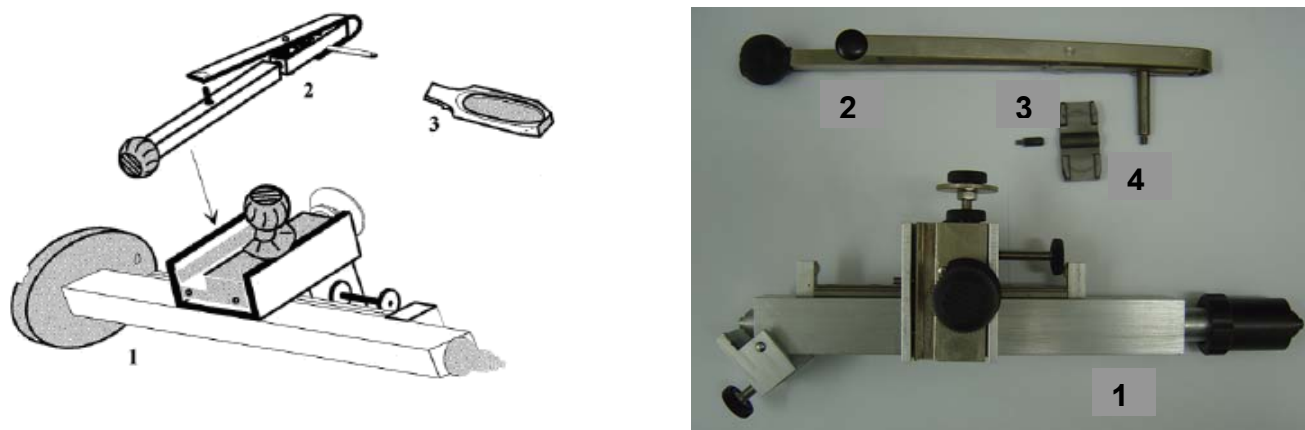


Figura 2. Sistema comercial (Analytic Jena) de introdução de amostras sólidas no atomizador: 1 - módulo principal fixado no compartimento do forno de grafite, 2 - pinça metálica conectada no módulo principal usada para sustentar a plataforma de grafite, 3 - plataforma de grafite, 4 – forno de grafite.

O terceiro tipo é um injetor especial, desenvolvido por Grobensi *et al.*³⁹, para a introdução de amostras em pó no atomizador com tubo de grafite. O injetor é semelhante a uma micro-seringa onde podem ser introduzidos no atomizador entre 0,5 a 5 mg de amostra no sistema de atomização. Ainda, a amostra pode ser introduzida no atomizador por um amostrador especial, que coleta a amostra por acumulação eletrostática ou filtração direta por poros de grafite, para o caso de amostras suspensas em ar.

2.3.4 Sistemas de atomização

Acompanhando a evolução da DSS-GF AAS, diversos sistemas de atomização foram desenvolvidos. Um dos primeiros sistemas de atomização da DSS-GF AAS utilizados foram os tubos de grafite (desenvolvidos pela PerkinElmer e Varian). Neste sistema de atomização, a amostra sólida pode ser introduzida no tubo através de um furo centralizado ou pelo final do tubo. Entretanto, logo após ser comercializado, foram encontrados alguns problemas em comum, como difícil introdução da amostra, fortes interferências espectrais e diferentes posições da amostra na parede do tubo de grafite.

³⁹ Grobensi, Z., *et al.*, *Mikrochim. Acta* 1 (1982) 115-125.

Em vista destas dificuldades, diferentes sistemas alternativos para DSS-GF AAS foram propostos, conforme mostra Figura 3.

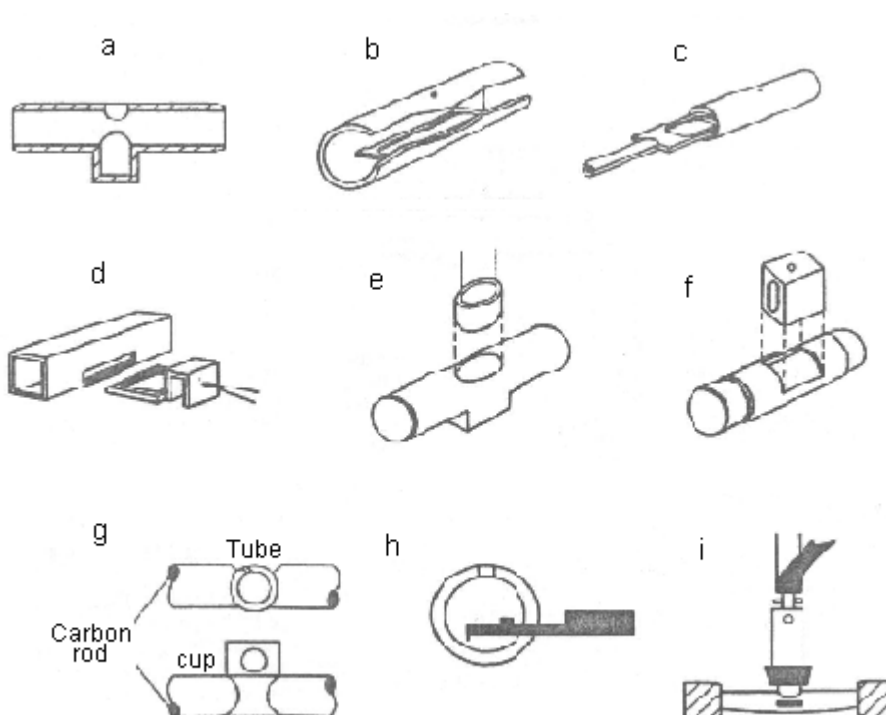


Figura 3. Sistemas de atomização utilizados na DSS-GF AAS. a) *cup cuvette*, b) tubo de grafite com plataforma de L'vov, c) *boat*, d) *microboat*, e) *cup atomizer*, f) *cup-in-tube*, g) *carbon rod*, h) *graphite probe*, i) *second surface*

2.3.4.1 *Cup cuvette*

Neste sistema as amostras eram colocadas em um recipiente que era introduzido no tubo de grafite (Figura 3a). Com isso foram minimizados os problemas do posicionamento diferenciado das amostras no tubo de grafite. A principal vantagem do atomizador *cup cuvette* foi evitar que o resíduo formado durante a atomização bloqueasse a passagem da radiação ¹⁵. Entretanto, as condições fornecidas pelo atomizador reduziam a sensibilidade, devido à presença de um furo no tubo de grafite, que reduzia o tempo de permanência do analito no tubo.

¹⁵ Bendicho, C. e Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

2.3.4.2 Tubo de grafite com plataforma de L'vov

L'vov *et al.*⁴⁹ propuseram a utilização de uma plataforma de grafite pirolítico inserido no centro do tubo de grafite para análise de amostras líquidas. Após alguns anos, este sistema passou a ser, também, empregado na DSS-GF AAS (Figura 3b). Neste sistema, a amostra é colocada em uma plataforma que é aquecida por convecção (radiação proveniente da parede do tubo aquecido). A temperatura depende da massa introduzida na plataforma e área de contato entre a plataforma e a parede do tubo.

Chakrabarti *et al.*²³ investigaram a utilização do tubo de grafite com e sem plataforma para a determinação de Cd, Co, Cu, Fe, Pb e Zn em fígado bovino por DSS-GF AAS. Para a amostra de fígado bovino, SRM 1577, foi observada exatidão superior a 94% (para Cd, Cu e Pb), com e sem plataforma. Também observaram que, com o uso da plataforma, os desvios padrão relativos foram menores para todos os elementos estudados. Os autores concluíram que a maior vantagem do uso de plataforma é a maior sensibilidade para os elementos relativamente mais voláteis, como Pb. Esses mesmos autores²² determinaram vários elementos em tecido de ostras, por DSS-GF AAS, utilizando a plataforma de L'vov. A precisão foi semelhante para ambas as técnicas e a exatidão foi melhor quando foi empregada a plataforma. Os autores observaram que o custo da plataforma é baixo se comparado com o aumento da vida útil do tubo de grafite.

Outros sistemas comerciais de suportes de grafite foram propostos como o *boat* (Figura 3c) e o *microboat* (Figura 3d). O suporte *boat* pode ser utilizado com maior quantidade de amostra (0,2 a 30 mg), devido a maior área do suporte, em relação à plataforma de L'vov. Para o *microboat* a diferença entre os outros suportes é quanto à inserção no tubo ser de forma radial, enquanto que nos outros suportes é axial.

⁴⁹ L'vov, B. V., *et al.*, Zh. Prikl. Spectrosk. 27 (1977) 395.

²³ Chakrabarti, C.L., *et al.*, Spectrochim. Acta Part B 35 (1980) 93-105.

²² Chakrabarti, C.L., *et al.*, Spectrochim. Acta Part B 35 (1980) 547-560.

2.3.4.3 *Cup atomizer*

Esse atomizador consiste de um recipiente de 2,5 mm de diâmetro e seu peso é de 45 mg (Figura 3e). O uso do *cup atomizer* é caracterizado pela facilidade de pesagem da amostra e transferência dele da microbalança para o tubo de grafite. O risco de contaminação é baixo e a área de contato entre o recipiente e a parede do tubo é maior do que na plataforma de L'vov. A massa de amostra que pode ser introduzida no recipiente varia entre 0,1 e 2 mg. Várias aplicações do sistema *cup atomizer* são descritos na literatura, principalmente para amostras biológicas⁵. Com este sistema a deterioração do tubo de grafite durante a atomização é menor, não ocorrendo a acumulação de depósitos na parede do tubo¹⁵.

2.3.4.4 Técnica *Cup-in-tube*

Esse atomizador consiste de uma cápsula de 3,5 x 4,2 mm pesando, aproximadamente, 180 mg (Figura 3f). Riscos de contaminação podem ocorrer durante a introdução ou remoção da cápsula no tubo. A amostra é aquecida por convecção, devido à transferência de calor da parede da cápsula. A técnica *Cup-in-tube* possibilita melhor sensibilidade quando comparada com a plataforma de L'vov²⁰. Normalmente, a massa de amostra introduzida na cápsula é de 0,3 a 1,5 mg⁷⁶. O *cup-in-tube* tem sido utilizado para diferentes tipos de amostras como, por ex., botânicas e geológicas^{88,20}.

2.3.4.5 Atomizador *Carbon rod*

O *carbon rod* é um atomizador aberto em que a amostra é introduzida em um copo ou tubo, o qual é aquecido transversalmente por meio de dois eletrodos de grafite (Figura 3g). Este atomizador é utilizado para análise direta de sólidos ou para a determinação de metais em material particulado suspenso em ar.

⁵ Atsuya, I. e Itoh, K., *Spectrochim. Acta Part B* 38 (1983) 1259-1264.

¹⁵ Bendicho, C. e Loos-Vollebregt, M. T. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 353-373.

²⁰ Carnrick, G. R., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 1 (1986) 443-447.

⁷⁶ Schlemmer, G. e Welz, B., *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987) 405-409.

⁸⁸ Völlkopf, U., *et al.*, *Analyst* 110 (1985) 573-577.

²⁰ Carnrick, G. R., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 1 (1986) 443-447.

2.3.4.6 Atomizador *Graphite Probe*

O sistema *graphite probe* consiste de uma sonda de grafite que é introduzida no tubo de grafite pré-aquecido à temperatura de atomização (Figura 3h). A sonda é aquecida devido à transferência de calor no tubo de grafite e, desta forma, a temperatura dentro do tubo é constante durante a atomização do analito. Alguns autores²¹ fizeram a comparação entre três tipos de atomizadores: tubo sem plataforma, tubo com plataforma de L'vov e *grafite probe* para a determinação de chumbo em fígado bovino. Os autores obtiveram melhores resultados utilizando tubos com plataforma e *grafite probe*. Uma das vantagens do atomizador *grafite probe* é que as etapas de secagem e pirólise podem ser feitas fora do tubo, minimizando, assim, algumas interferências causadas pela matriz.

2.3.4.7 Atomizador *second surface*

Este sistema de atomização foi utilizado por Rettberg e Holcombe⁷⁵ para obter uma separação eficiente entre os processos de vaporização e atomização, pela condensação do vapor atômico em uma superfície de tântalo resfriada. O sistema utiliza uma haste de Ta, onde os analitos são condensados e um tubo (Figura 3i). A amostra sólida (0,7 a 4 mg) é pesada em um recipiente de grafite e este é colocado no tubo onde é inserida a haste de Ta. O tubo é aquecido, para a vaporização da amostra e retenção do analito na haste de Ta resfriado. Após, o tubo é novamente aquecido para a vaporização do analito da superfície da haste de Ta. Desta forma, o sinal analítico independe da matriz da amostra e o sinal de fundo é relativamente baixo. Todas as análises foram feitas sem pré-tratamento das amostras, sem modificador químico e, para a calibração, foram utilizadas soluções de referência aquosas. A exatidão obtida foi entre 81 a 137% para amostras de materiais de referência certificados, como "citrus leaves", "fly ash", entre outros tipos de materiais na determinação de Ag, Cd, Cu, Mn, Pb e Tl.

²¹ Chakrabarti, C.L., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 42 (1987) 1217-1225.

⁷⁵ Rettberg, T. M. e Holcombe, J. A., *Anal. Chem.* 58 (1986) 1462-1467.

2.3.5 Uso de Modificadores químicos em DSS-GF AAS

Para reduzir as interferências espectrais e não espectrais em GF AAS deve ser aplicado o conceito STPF (*Stabilized temperature platform furnace*) introduzido por Slavin *et al.*⁸⁰. Segundo este conceito, é fundamental o uso de um corretor de fundo eficiente, tubo aquecido transversalmente e com plataforma de L'vov, aquecimento rápido, medidas em absorbância integrada e uso de modificador químico adequado. Os aparelhos modernos são produzidos de acordo com as recomendações do conceito STPF. Entretanto, um importante item deste conceito, o modificador químico, pode variar, dependendo do elemento e da natureza da amostra⁹⁰. O modificador químico é um reagente que, adicionado à amostra, pode formar um composto mais estável termicamente com o analito ou, reagir com a matriz para alterar sua volatilidade, podendo, assim, eliminar a matriz à temperatura mais alta sem perdas de analito^{90,23}.

Na análise de sólidos a utilização de modificadores químicos não é muito difundida, sendo que alguns autores^{17,20} afirmam que a utilização do modificador químico somente é efetiva se as partículas da amostra apresentarem-se completamente umedecidas pela solução do modificador. Entretanto, outros autores⁷⁹ salientam que uma mistura do modificador químico com a amostra sólida, antes da sua introdução no sistema de atomização, pode ser efetiva.

Na análise direta de sólidos o modificador químico pode ser utilizado na forma sólida ou líquida. Os modificadores químicos na forma líquida são, freqüentemente, usados para a determinação de elementos mais voláteis, como Pb, Cd, Se e As. Um dos modificadores químicos utilizados em DSS-GF AAS é o Pd⁷⁹, alguns autores utilizam, também, modificadores permanentes, como Ru e⁸⁵ W-Rh⁵⁷.

⁸⁰ Slavin, W., *et al.*, *At. Spectrosc.* 2 (1981) 137-145.

⁹⁰ Volynskii, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921.

²³ Chakrabarti, C.L., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 35 (1980) 93-105.

¹⁷ Cal-Prieto, M. J., *et al.*, *Talanta* 56 (2002) 1-51.

²⁰ Carnrick, G. R., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 1 (1986) 443-447.

⁷⁹ Silva, A. F., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2031-2045.

⁸⁵ Vale, M.G.R., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1859-1873.

⁵⁷ Lima, É. C., *et al.*, *Mikrochim. Acta* 134 (2000) 113-121.

Alguns autores ^{29,77} recomendam o uso de pó de grafite como modificador químico para análise direta de amostras inorgânicas sólidas. O mecanismo proposto por Kurfürst ^{45d} é que a grafite facilita a redução dos óxidos formados. Entretanto, De Kersabiec e Nenedetti utilizaram pó de grafite apenas para diluição de amostras geológicas ²⁷.

2.3.6 Aplicações da DSS-GF AAS

Diversas aplicações da DSS-GF AAS são mostradas na Tabela 1. Adicionalmente, são apresentadas algumas características como tipo de atomizador, massa característica (m_0), desvio padrão relativo (RSD), limite de detecção (LD), tipo de modificador químico e técnica de calibração.

Tabela 1. Aplicações da DSS-GF AAS para a determinação de cádmio, cobre e chumbo.

| Amostra | Elemento | Atomizador | Observações | Ref. |
|---------------------|------------------------|------------------------------------|--|------|
| Amostras ambientais | Cd, Ni | plataforma de L'vov | massas entre 0,3 e 1,5 mg; RSD entre 10 a 20% (Cd); calibração com CRM; modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ com Triton X-100 (Cd) | 76 |
| Amostras biológicas | Pb | plataforma de L'vov | HNO_3 e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador químico | 16 |
| | Cd, Pb | <i>boat</i> | Estudo de homogeneidade | 60 |
| | Cu | <i>microboat</i> e tubo de grafite | | 31 |
| | Cd, Pb | plataforma de L'vov | Modificador químico como $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$; menor exatidão mediante calibração com soluções aquosas | 6 |
| | Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Zn | Plataforma L'vov e tubo de grafite | Cd, Cu e Pb exatidão superiores a 94% | 21 |

²⁹ Docekal, B. e Krivan, V., *Spectrochim. Acta* 508 (1995) 517-526.

⁷⁷ Schrön, W., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 361 (1998) 106-109.

⁴⁵ Kurfürst, U., *Solid Sample Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1998, (a)4-21, (b) 44, (c) 36-49, (d) 122-124, (e) 143-151, (f) 262.

²⁷ De Kersabiec, A. M. e Benedetti, M. F., *Fresenius J. Anal. Chem.* 328 (1987) 342-345.

Continuação da Tabela 1.

| | | | | |
|----------------------|--------------------------------|------------------------------------|--|----|
| | Cd | plataforma de L'vov | modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{HNO}_3$; efeito Zeeman | 58 |
| | Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Zn | plataforma L'vov e tubo de grafite | Cd modificador químico $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 22 |
| | Cd, Pb | plataforma de L'vov | RSD entre 6 e 16% | 47 |
| | Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn | plataforma de L'vov | Coprecipitação com 8-hidroxiquinolina ; LD de $0,008 \mu\text{g g}^{-1}$ (Cd), $0,05 \mu\text{g g}^{-1}$ (Cu) e $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$ (Pb) | 2 |
| | Pb | plataforma de L'vov | Calibração com soluções de referência aquosa; LD de 4 ng g^{-1} e LQ 12 ng g^{-1} | 59 |
| | Cd, Pb | plataforma de L'vov | Exatidão > 101% | 38 |
| | Ag, Cd, Cu, Mn, Pb, Tl | <i>second surface</i> | Calibração com soluções de referência aquosa RSD de 25% (Cd), 16% (Cu) e 3% (Pb), | 75 |
| | As, Cd, Cr, Cu, Mn, Pb, Zn | <i>miniature cup</i> | | 4 |
| Amostras geológicas | As, Cd, Pb, Hg, Sb, Se | plataforma de L'vov | as amostras foram diluídas com pó de grafite | 27 |
| | Cd, Cu, Pb | plataforma de L'vov | modificador permanente - Ru | 85 |
| | Cu, Pb | plataforma de L'vov | Pirólise de 950°C (Cu) e 500°C (Pb) e atomização de 2300°C (Cu) e 2100°C (Pb) | 70 |
| Amostras inorgânicas | Cd, Cr, Pb | plataforma de L'vov | exatidão entre 89 a 116% e RSD 4,8 a 7,7% (Cd e Pb) | 69 |
| | Cd, Cu, Fe, Pb, Zn | plataforma de L'vov | Amostras diluídas com pó de grafite; LD de $0,9 \text{ pg}$ (Cd), 40 pg (Cu) e 5 pg (Pb) | 77 |
| | Cd, Sn | plataforma de L'vov | Modificador químico Pd, RSD 7,6% (Cd) | 12 |
| | Cu, Pb | plataforma de L'vov | Amostras entre 0,75 a 2,00 mg, com RSD de 7,8% (Pb) | 13 |
| | Ag, Cd, Pb, Ta, Zn | plataforma de L'vov | RSD entre 6 a 33% Cd e Pb, LD: 30 pg (Cd) e 1 ng (Pb) | 54 |

2.4 Análise direta de amostras sólidas por espectrometria de absorção atômica por chama (SS-F AAS)

Nas análises por SS-F AAS a amostra pode ser introduzida no sistema de atomização de duas maneiras: por aspiração do sólido na forma de suspensão e por introdução direta da amostra sólida (previamente moída) na chama, utilizando-se dispositivos mecânicos ou pneumáticos ⁹⁴.

2.4.1 Sistemas de introdução de amostras

Um dos primeiros trabalhos, utilizando atomizadores com chama, para análise de sólidos foi feito em 1967 por Venghiattis ⁸⁷. O sistema foi utilizado para a determinação de Ag, Au, Bi, Hg e Ni em amostras geológicas. A amostra foi misturada com um combustível sólido (identificado pelo autor como SM-1) que era queimado abaixo do caminho óptico do espectrômetro de absorção atômica e um filamento incandescente iniciava a combustão. A mistura foi colocada sobre uma plataforma de vidro temperado ou sobre um cilindro de aço inoxidável e/ou grafite. Apesar da precisão não ter sido boa, como na determinação de ouro em amostras geológicas, a sensibilidade foi superior àquela obtida por procedimentos convencionais de determinação por FAAS.

Logo após, em 1970, Coudert e Vergnaud ²⁵ propuseram a introdução direta de amostras sólidas no queimador. Paládio foi determinado em amostras inorgânicas diluídas 100 vezes com carbonato de cálcio. A mistura era introduzida na base da chama através de um parafuso controlado por um motor elétrico, com auxílio de um fluxo de gás. Com esse procedimento era adicionado, continuamente, o pó da mistura dentro do queimador. A sensibilidade, em termos de concentração característica, variou entre 5,5 a 7,8 $\mu\text{g g}^{-1}$ dependendo das características das amostras.

Em 1970, Delves ²⁸ apresentou um sistema onde a amostra era introduzida em um microcadinho de níquel, e depois adicionada diretamente sobre a chama ar+acetileno (Figura 4). Apesar deste sistema ter sido originalmente desenvolvido para amostras líquidas (determinação de Pb em sangue) ele foi utilizado, também, para

⁹⁴ Willis, J. B., *Anal. Chem.* 47 (1975) 1752-1758.

⁸⁷ Venghiattis, A. A., *Spectrochim. Acta Part B* 23 (1967) 67-78.

²⁵ Coudert, M. A. e Vergnaud, J. M., *Anal. Chem.* 42 (1970) 1303-1304.

²⁸ Delves, H. T., *Analyst* 95 (1970) 431-438.

amostras sólidas. Lau e Li ⁵⁶ utilizaram o sistema de Delves para a determinação de Cd e Pb em amostras de tintas na forma de suspensões e na forma sólida.

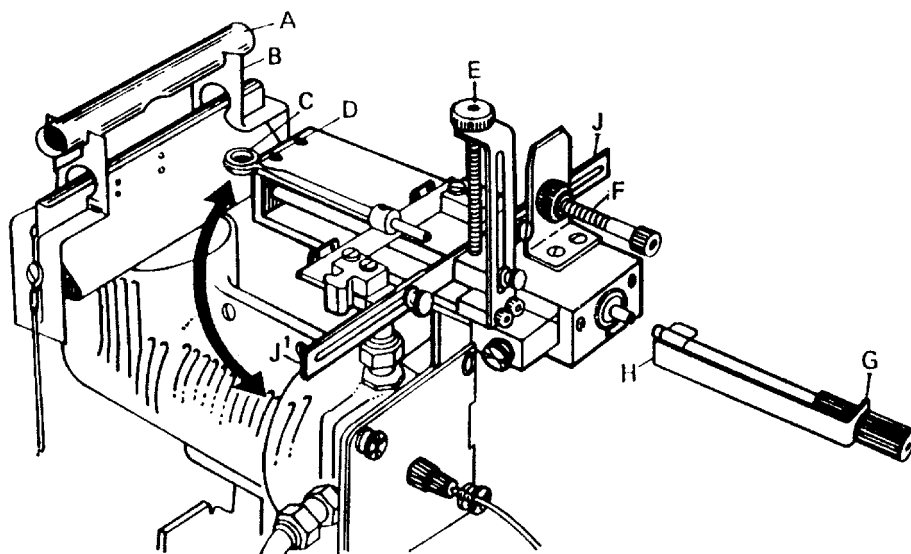


Figura 4. Sistema para a determinação de chumbo em sangue (adaptado de Delves ²⁸). **A** - tubo de níquel, **B** – suporte, **C** - cadinho de níquel, **D** – suporte de fio de platina, **E** – parafuso de ajuste vertical, **F** – parafuso de ajuste angular, **G** e **H** – limitador (batente), **J** e **J'** – braços giratórios.

Govindaraju *et al.* 1971 ³⁷ utilizaram um sistema denominado *iron screw rod technique* (Figura 5) para determinar rubídio por SS-F AAS, em amostras de rochas, a base de silicatos. Estes autores, utilizando este mesmo sistema, em trabalhos posteriores ³⁷, propuseram a determinação de céσιο, chumbo e lítio em amostras de rochas. Neste sistema, a amostra pulverizada (partículas < 75 µm) era impregnada uniformemente numa haste de ferro. A haste era manualmente adicionada por meio de uma alavanca, carregada até uma chama ar+acetileno. Posteriormente, determinaram chumbo ³⁷ em amostras de rochas. Neste trabalho não foi observado efeito de matriz.

Uma revisão dos primeiros sistemas com duas etapas de aquecimento, para a análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica foi realizada por L'

⁵⁶ Lau, O. W. e Li, K. L., *Analyst* 100 (1975) 430-437.

³⁷ Govindaraju, K, *et al.*, *Chem. Geol.*, 8 (1971) 131-137.

⁵¹ L'vov, B. V., *Talanta* 23 (1976) 109-118.

vov⁵¹. Um dos sistemas citados foi o *capsule-in-flame*, demonstrado na Figura 5. Neste sistema a amostra é introduzida em uma cápsula de grafite poroso, fixada entre dois cilindros e aquecida por uma chama ou aquecimento eletrotérmico. Os vapores formados difundem-se através da parede da cápsula, atingem a chama e a atomização do analito ocorre. L'vov também salientou que a baixa precisão das medidas estava principalmente associada com a heterogeneidade da amostra. Nos procedimentos descritos o desvio padrão relativo foi entre 5 a 10% para amostras homogêneas.

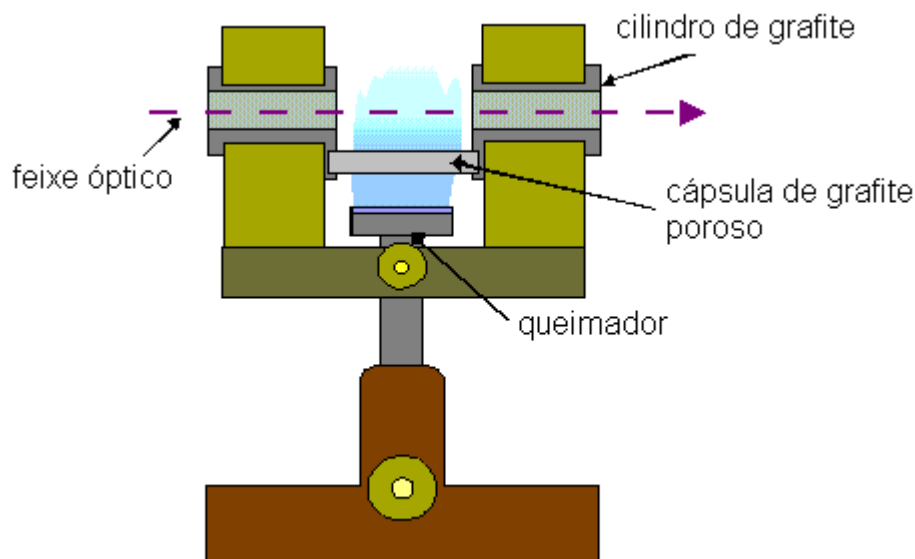


Figura 5. Sistema para SS-F AAS utilizando uma cápsula de grafite poroso para a vaporização de amostras sólidas e posterior atomização na chama (adaptado de L'vov⁵¹ e Costa²⁴).

Kántor *et al.*⁴³, em 1976, utilizando um espectrômetro Zeiss, Jena, Model LMA-1, combinaram um sistema de vaporização da amostra sólida com laser e, posteriormente atomização com chama. O sistema foi denominado *laser-flame*. Esse sistema foi aplicado à análise de ligas metálicas à base de níquel e de emulsões fotográficas, para a determinação de cádmio, cobre, ferro, manganês e sódio. Parte da amostra era volatilizada pela aplicação do laser e, após, succionada através da câmara de

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

⁴³ Kántor, T. *et al.*, *Talanta* 23 (1976) 585-586.

nebulização até a chama. O sinal de absorção atômica dependia da duração dos pulsos de laser. O limite de detecção encontrado para Cd foi 0,4 ng, com RSD de 8,2% e para Cu o LD foi 2 ng e o RSD 12%.

Kanipayor *et al.* 1984⁴², utilizaram a combinação de um forno de grafite e chama para a determinação de As, Cd, Co, Cu, Hg, Pb, Sb e Se em amostras biológicas e geológicas. A amostra foi injetada dentro do forno de grafite e atomizada em tubo de quartzo na chama. Com esse procedimento, a sensibilidade diminuiu de 10 a 200 vezes em relação a análise por DSS-GF AAS. Entretanto, foi possível a introdução de até 0,2 g, minimizando problemas como heterogeneidade da amostra. O método de calibração que apresentou melhores resultados foi com o uso de material de referência certificado sólido, com composição semelhante à das amostras. Entretanto, para alguns elementos, como Cd e Co, foi possível a calibração com diferentes materiais de referência. Para chumbo, empregando massas de 40 a 60 mg de fígado bovino, com calibração por adição de analito, obtiveram uma concordância de 103%. Para Cu, massas de 5 a 12 mg de amostras de sedimentos, com calibração com soluções de referência aquosas, foi obtida recuperação de, no máximo, 83,5%. Para massas de 1 a 2 mg de amostras biológicas e calibração com material de referência certificado, foram obtidas recuperações de 79 a 108,3%.

Campos *et al.* 1990¹⁸ determinaram chumbo, cádmio, zinco e cobre, em amostras biológicas por SS-F AAS. Em uma plataforma de grafite foram introduzidos entre 0,1 e 10 mg de amostra. A combustão da amostra foi iniciada por três lâmpadas de infravermelho, conforme mostrado na Figura 6. Os gases resultantes eram transportados por uma corrente de ar até o queimador, onde a atomização do analito ocorria. Verificou-se que com baixa vazão de ar a combustão da amostra era incompleta e, com vazão muito alta, o tempo de residência dos átomos na chama era reduzido. Segundo os autores, com o processo de combustão, foram observados picos duplos, para Cd e Pb. Entretanto, para cobre, os sinais obtidos foram simétricos e na forma de um pico único. Os picos duplos ocorrem porque a energia da combustão libera, inicialmente, parte do analito e, depois, o aquecimento contínuo libera o restante do analito. Não foi observado efeito de matriz para as amostras estudadas. Boas concordâncias foram obtidas com materiais de referência biológicos. As massas

⁴² Kanipayor, R., *et al.*, *Anal. Chim. Acta*, 166 (1984) 39-49.

¹⁸ Campos, R. C., *et al.*, *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66-71.

características para Cd, Cu e Pb foram de 0,21 ng, 1,2 ng e 4,4 ng, respectivamente, para diferentes amostras.

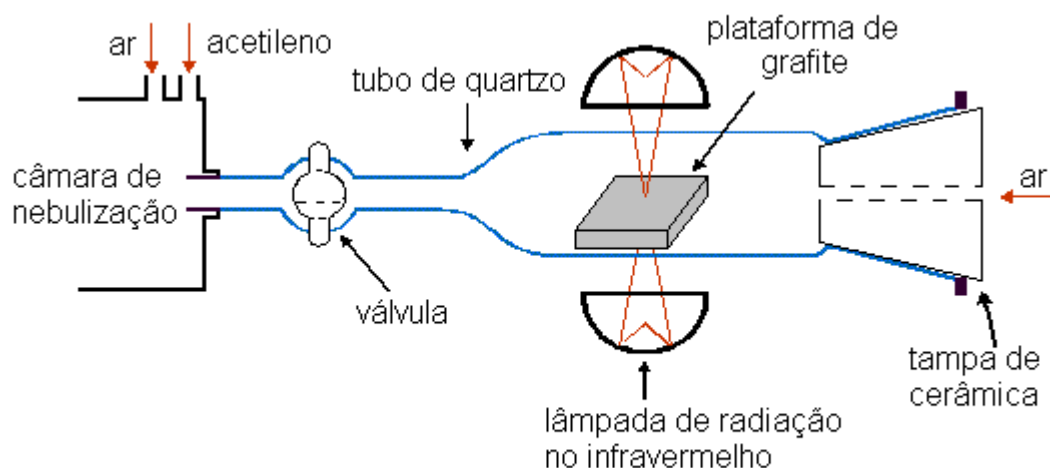


Figura 6. Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras, conectado ao queimador através da câmara de nebulização (adaptado de Campos *et al.*¹⁸ e Costa²⁴).

Neste mesmo ano, Campos *et al.*¹⁹ desenvolveram um procedimento para análise direta de sólidos por FAAS. Neste estudo, as amostras biológicas foram pesadas (0,1 a 2,0 mg) em uma plataforma de grafite, onde foram focalizadas três lâmpadas de infravermelho. O começo da combustão da amostra ocorre por um *flash*, liberando um aerossol que é transportado para um tubo em “T”, que está aquecido em uma chama ar+acetileno ou numa bobina elétrica. O sistema é mostrado na Figura 7.

Para a determinação de Pb, o sistema foi furado na base para melhorar a eficiência da atomização. Oxigênio era utilizado para transportar o aerossol para a cela e auxiliar da combustão da amostras. Os autores observaram que altas vazões de O₂ provocam o resfriamento da cela e reduzem o tempo de permanência dos átomos no atomizador/feixe óptico. Quando a massa de amostra excedeu 2 mg, o sinal de fundo aumentou. Os autores atribuem este fato a insuficiente combustão e ao espalhamento da radiação pelo material particulado. O tempo de vida observado para o tubo em T, de

¹⁸ Campos, R. C., *et al.*, *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66–71.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

¹⁹ Campos, R. C., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 669 – 673.

quartzo ou níquel sem furo, foi de 200 h. Essa técnica possibilitou uma melhor sensibilidade comparada com as outras técnicas de introdução de aerossol diretamente na cela sob a chama ¹⁸. A sensibilidade obtida com este procedimento é duas vezes maior que por sistema de F AAS convencional.

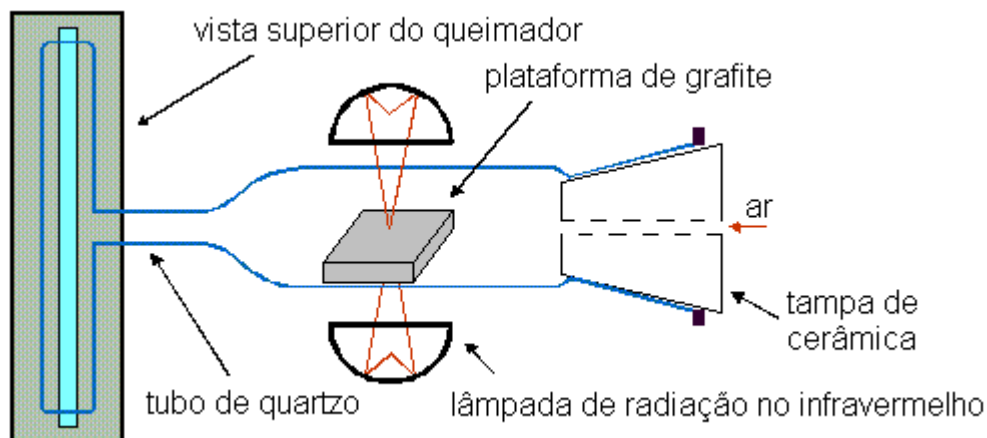


Figura 7. Sistema para SS-F AAS utilizando lâmpadas de radiação no infravermelho para a vaporização das amostras e, atomização em cela de quartzo posicionada diretamente sobre a chama do queimador (adaptado de Campos *et al.*¹⁹ e Costa ²⁴).

Flores *et al.* 2001 ³², desenvolveram um sistema onde, inicialmente, a amostra pulverizada era pesada em um pequeno frasco de polipropileno. Esse frasco era conectado ao sistema. A amostra era levada a uma cela de quartzo por meio de um fluxo de ar. A cela de quartzo era posicionada sobre uma chama ar-acetileno, conforme a Figura 8. Segundo os autores, a limitação do procedimento era a dificuldade da calibração, que utilizava materiais de referência com composição similar a amostra. A massa característica e os limite de detecção obtidos foram de 1,5 ng e 8 ng (absolutos) para Cu, respectivamente.

¹⁸ Campos, R. C., *et al.*, *J. Braz. Chem. Soc.* 1 (1990) 66–71.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

³² Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1875-1882.

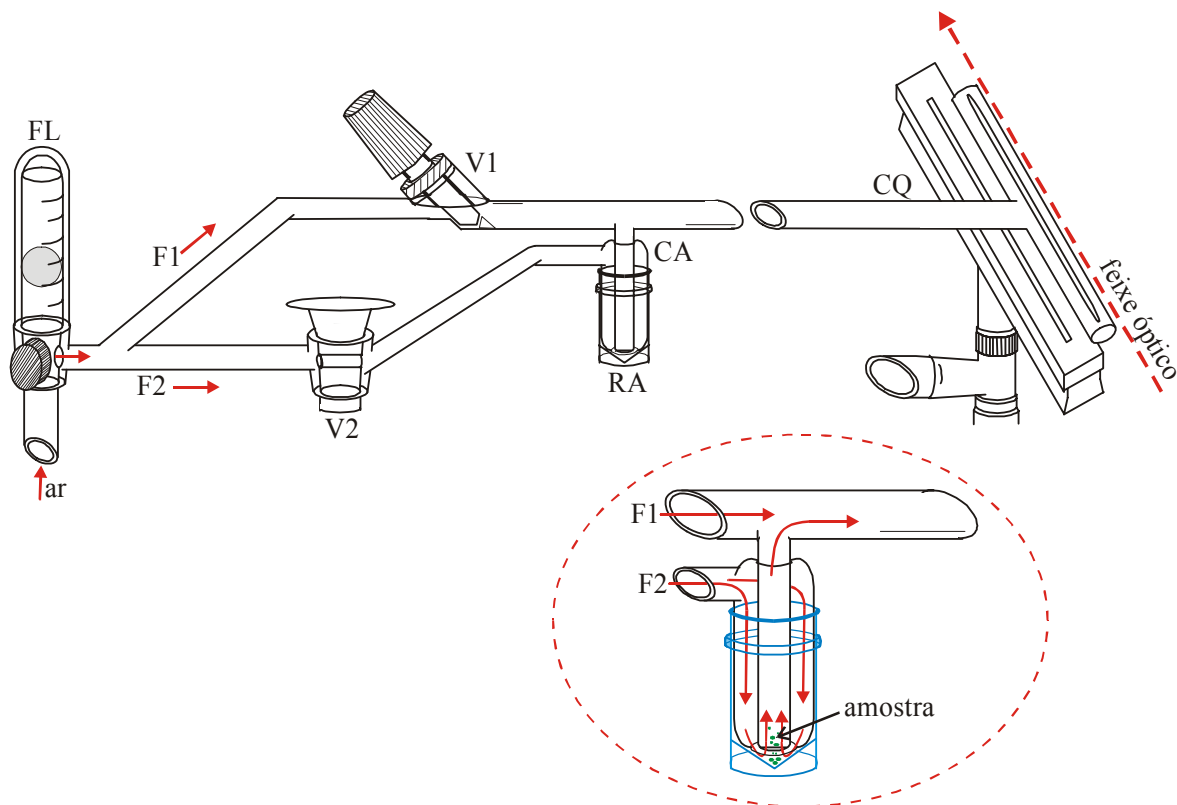


Figura 8. Sistema para SS-F AAS proposto por Flores *et al.*³¹ O detalhe permite a visualização do fluxo de ar na câmara de amostragem. FL – fluxômetro, F1 – fluxo de ar para a chama, F2 – fluxo de ar para a câmara de amostragem, CA – câmara de amostragem, RA – recipiente de amostragem, CQ – cela de quartzo, V1 e V2 – válvulas.

Flores *et al.* 2004³³, utilizaram um sistema semelhante ao descrito anteriormente³² para a determinação de Mn em amostras de carvão. Os sinais de fundo foram sempre baixos e a massa característica do Mn foi 1,9 ng para massa de amostra entre 0,05 a 2 mg. Os resultados foram considerados satisfatórios com respeito à exatidão (97,5 e 103,2%) e precisão (RSD melhor que 6%). Segundo os autores, a limitação do procedimento era a pequena quantidade de massa de amostra que podia ser introduzida na cela de quartzo (< 2 mg).

³³ Flores, E. M. M., *et al.*, *J. Braz. Chem. Soc.* 15 (2004) 199-204.

³² Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1875-1882.

A Figura 9 permite a visualização parcial do sistema utilizado por Flores *et al.*³², instalado em um espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena). Pode-se observar, também, o comportamento da chama (coloração amarelada) no instante em que a amostra é introduzida no sistema de atomização. Este mesmo sistema foi utilizado por Paniz⁷³ para a determinação de Au, Cu, Pb e Zn em amostras geológicas.



Figura 9. Vista parcial do sistema para SS-F AAS instalado em um espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena).

Neste mesmo ano, estes autores³⁴ utilizaram um sistema semelhante para a determinação de Cu em amostras de plantas medicinais. As amostras foram trituradas até tamanho da partículas $\leq 80 \mu\text{m}$. A calibração foi realizada com materiais de referência certificado. A massa característica e o limite de detecção foram de 0,8 ng e 1,2 ng, respectivamente.

Costa, em 2004²⁴, empregou um sistema modificado para permitir a introdução de maiores massas de amostra de fígado bovino, na chama para a determinação de cádmio. Neste trabalho foram estudados dois diferentes procedimentos de introdução de amostra: o encapsulamento da amostra com papel e a produção de pastilhas da

³² Flores, E. M. M., *et al.*, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1875-1882.

⁷³ Paniz, J. N. G., Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Minas Metalúrgicas e de Materiais da UFRGS, Porto Alegre, RS, 2003.

³⁴ Flores, E. M. M., *et al.*, *Microchem. J.* 77 (2004) 113-118.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

amostra com ágar. Os melhores resultados foram obtidos com as pastilhas com ágar, permitindo a introdução de até 21 mg de amostra no sistema. O limite de quantificação e a massa característica foram tipicamente de 37 ng g^{-1} e $0,19 \text{ ng}$, para as pastilhas com ágar.

2.4.2 Aplicações

Diferentes aplicações da SS-F AAS são mostradas na Tabela 2. As amostras estão dispostas em ordem alfabética, onde estão descritos as principais características e os analitos.

Tabela 2. Aplicações da SS-F AAS para a determinação de cádmio, cobre e chumbo.

| Amostra | Elemento | Observações | Ref. |
|----------------------------------|--------------------------------|---|------|
| Amostras biológicas | Bi, Cd, Cu, Hg, Pb, Tl, Zn | $m_0 = 0,2 \text{ ng}$ (Cd), $1,4 \text{ ng}$ (Cu) e $4,4 \text{ ng}$ (Pb) | 18 |
| | Cu | $m_0 = 1,5 \text{ ng}$, LD = 8 ng e partículas $\leq 80 \mu\text{m}$ | 32 |
| | Cd | Cápsula com papel e pastilhas com ágar, LD = $0,23 \text{ ng}$ e $m_0 = 0,19 \text{ ng}$ (pastilha) LD = $1,6 \text{ ng}$ e $m_0 = 0,34 \text{ ng}$ (cápsula) | 24 |
| | Cu | $m_0 = 0,8 \text{ ng}$; LD = $1,2 \text{ ng}$ e RSD < 8%; partículas $\leq 80 \mu\text{m}$ | 34 |
| | Bi, Cd, Cu, Hg, Pb, Tl, Zn | $m_0 = 0,006 \text{ ng}$ (Cd), $0,45 \text{ ng}$ (Cu) e $0,35 \text{ ng}$ (Pb) | 19 |
| Amostras biológicas e geológicas | As, Cd, Co, Cu, Hg, Pb, Sb, Se | RSD = 10,5%, exatidão entre 80 a 109% | 42 |
| Amostras geológicas | Rb | RSD < 10%. | 37 |
| | Au, Cu, Pb, Zn | Massa de amostra entre $0,25$ e $1,5 \text{ mg}$; LD = $0,01 \mu\text{g}$ (Cu), $0,06 \mu\text{g}$ (Pb); LQ = $0,03 \mu\text{g}$ (Cu), $0,2 \mu\text{g}$ (Pb); $m_0 = 0,8 \text{ ng}$ (Cu) e $1,2 \text{ ng}$ (Pb) | 73 |
| Amostras inorgânicos | Pd | Amostras diluídas com CaCO_3 , m_0 entre $5,5$ a $8,5 \mu\text{g g}^{-1}$ | 25 |
| | Mn | $m_0 = 1,9 \text{ ng}$, exatidão entre 97,5 e 103%, RSD < 6% e partículas $\leq 80 \mu\text{m}$ | 33 |
| | Cd, Pb | LD = $92 \mu\text{g L}^{-1}$ (Cd) e $915 \mu\text{g L}^{-1}$ (Pb) | 56 |
| | Cd, Cu, Fe, Mn, Na | LD = $0,4 \text{ ng}$ RSD = 8,2% (Cd), 22 ng (Cu) e RSD = 12% | 43 |

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os equipamentos, reagentes e amostras empregadas no desenvolvimento deste trabalho e, também, os procedimentos utilizados para o preparo das amostras. Uma descrição detalhada do sistema de introdução da amostra sólida no atomizador, proposto neste estudo, também é apresentada.

3.1 Instrumentação

As amostras foram pesadas em uma balança eletro-mecânica com resolução de 0,001 mg e tara máxima de 2 g (Sartorius, mod. M2P, Alemanha). Para comparação de resultados, as amostras foram decompostas em forno microondas Multiwave 3000[®], Anton Paar, Graz, Áustria (potência máxima de 1400 W, pressão máxima de 80 bar e temperatura máxima de 300 °C).

Uma estufa convencional (Fanem, mod. 515/4, São Paulo, Brasil) foi utilizada para secagem das amostras. Para cominuição das amostras foi utilizado moinho criogênico da Spex Certiprep (mod. 6750 Freezer//Mill[®], EUA).

As determinações de cádmio e chumbo por DSS-GF AAS foram feitas em espectrômetro de absorção atômica mod. AAS5 (Analytik Jena, Jena, Alemanha), equipado com tubo de grafite com aquecimento transversal, provido de plataforma de L'vov, acessório manual para análise de sólidos (SSA 5) e sistema de correção de fundo com fonte contínua. As determinações de cobre por DSS-GF AAS foram feitas em espectrômetro de absorção atômica mod. AAS ZEE nit 60 (Analytik Jena, Jena, Alemanha) equipado com tubo de grafite, provido de plataforma de L'vov, com aquecimento transversal, acessório manual para análise de sólidos (SSA 6Z) e sistema de correção de fundo por efeito Zeeman, operando com modo 3D FIELD dynamic, campo magnético médio com intensidade 0,7 T e campo magnético máximo com intensidade 0,8 T. Na Tabela 3 é apresentado o programa de temperatura a tempo para as determinações de cádmio, cobre e chumbo, utilizando-se o sistema DSS-GF AAS.

Tabela 3. Programa de temperatura e tempo para as determinações por DSS-GF AAS.

| Etapa | Temperatura (°C) | Rampa de temperatura (°C s ⁻¹) | Tempo de permanência (s) | Vazão de Argônio |
|------------|---|--|---|--|
| Secagem | 120 ^{a, b, c, d} | 15 | 15 ^a , 20 ^b , 50 ^c | máxima ^{a, b, c, d} |
| Pirólise | 700 ^a , 1000 ^b , 700 ^c , 1000 ^d | 100 | 50 ^{a, b} , 80 ^{c, d} | máxima ^{a, b, c, d} |
| Auto zero | 700 ^a , 1000 ^b , 700 ^c , 1000 ^d | 0 | 5 ^{a, b, c, d} | média ^a , zero ^{b, c, d} |
| Atomização | 1800 ^a , 1900 ^b , 1800 ^c , 2000 ^d | 3000 | 5 ^{a, b, c, d} | zero ^{a, b, c, d} |
| Limpeza | 2600 ^{a, b, c, d} | 3000 | 4 ^{a, b, c, d} | máxima ^{a, b, c, d} |

a: cádmio com modificador, b: cobre, c: chumbo sem modificador, d: chumbo com modificador

A Tabela 4 mostra os parâmetros referentes às lâmpadas de cátodo oco, o comprimento de onda e a largura da banda espectral, empregados neste trabalho, para GF AAS, DSS-GF AAS e SS-F AAS. Todas as medições foram feitas em absorvância integrada (área de pico).

Tabela 4. Parâmetros das lâmpadas de cátodo oco e do monocromador.

| | Corrente, mA | Comprimento de onda, nm | Largura da banda espectral, nm |
|----|--------------|-------------------------|--------------------------------|
| Cd | 5 | 228,8 | 0,5 |
| Cu | 4 | 324,8 | 0,8 |
| Pb | 5 | 283,3 | 0,5 |

As determinações de cádmio, cobre e chumbo, nas amostras decompostas por via úmida, foram feitas por GF AAS. As medições foram feitas em espectrômetro de absorção atômica mod. AAS5 (Analytik Jena, Alemanha), com tubo de grafite provido de plataforma de L'vov, utilizando os mesmos parâmetros descritos anteriormente para a lâmpada de cátodo oco. Para chumbo e cádmio, nitrato de paládio foi utilizado como modificador químico. A Tabela 5 apresenta o programa de temperatura e tempo utilizado nas determinações por GF AAS.

Tabela 5. Programa de temperatura e tempo para as determinações por GF AAS, após decomposição da amostra.

| Etapa | Temperatura (°C) | Rampa de temperatura (°C s ⁻¹) | Tempo de permanência (s) | Vazão de Argônio |
|------------|---|--|---|---|
| Secagem | 120 ^{a, b, c} | 15 | 15 ^a , 20 ^b , 50 ^c | máxima ^{a, b, c} |
| Pirólise | 700 ^a , 1000 ^b , 1300 ^c | 100 | 30 ^{a, b, c} | máxima ^{a, b, c} |
| Auto zero | 700 ^a , 1000 ^b , 1300 ^c | 0 | 4 ^a , 5 ^{b, c} | média ^a , zero ^{b, c} |
| Atomização | 2000 ^a , 2300 ^b , 2000 ^c | 3000 | 4 ^a , 5 ^{b, c} | zero ^{a, b, c} |
| Limpeza | 2600 ^{a, b, c} | 3000 | 2 ^a , 4 ^{b, c} | máxima ^{a, b, c} |

a: cádmio, b: cobre, c: chumbo

O sistema de amostragem de sólidos foi adaptado a um espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena, Jena, Alemanha), equipado com queimador do tipo monofenda (10 cm de comprimento) para chama ar+acetileno e aplicado às determinações de cádmio, cobre e chumbo.

3.2 Reagentes

Toda a água empregada foi destilada e desionizada em sistema de troca iônica convencional e, posteriormente, purificada por desionização em sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, USA).

Ácido nítrico concentrado de grau p.a. (65% HNO_3 , 1,4 kg L^{-1} , Merck) foi destilado em sistema de sub-ebulição em quartzo (Milestone, mod. Duopur, Sorisole, Itália) e peróxido de hidrogênio de grau p.a. (30% H_2O_2 , 1,11 kg L^{-1} , Merck) foram empregados na decomposição das amostras. Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico (p.a., Merck). Para diluir a amostra sólida foi utilizado pó de grafite (pó fino extra puro, grau espectroscópico, código 104206 – Merck 1999/2000).

As soluções de referência de cádmio, cobre e chumbo ($1,000 \pm 0,002 \text{ g L}^{-1}$) foram preparadas a partir da diluição de soluções Titrisol[®] (Merck) de CdCl_2 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, respectivamente, em HNO_3 0,2% (m/v). As soluções de calibração foram obtidas a partir da diluição das soluções de referência com HNO_3 0,2% (m/v), e empregadas nas determinações por GF AAS, SS-F AAS e DSS-GF AAS. Nas determinações de chumbo e cádmio, por GF AAS e DSS-GF AAS, foi utilizada solução de nitrato de paládio $10,0 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ em HNO_3 15% (Merck), posteriormente diluída dez vezes com HNO_3 0,2% (m/v), utilizado como modificador químico.

Acetileno comercial (99,5% de pureza, AGA) foi utilizado como combustível para a chama do SS-F AAS. Argônio (99,996% de pureza, AGA) foi utilizado como gás de proteção para DSS-GF AAS e como gás de proteção e de purga para GF AAS. Oxigênio industrial (99,5% de pureza, AGA) foi empregado no sistema SS-F AAS, para auxiliar na combustão da amostra.

3.3 Materiais Diversos

A vidraria empregada no laboratório foi lavada por imersão em solução de HNO_3 10% (m/v) por, pelo menos 48 h, e depois enxaguada com água, imediatamente antes do seu uso.

Para a produção das pastilhas da amostra foi utilizada uma prensa de aço inox, confeccionada em laboratório, que permitiu a produção simultânea de três pastilhas (Figura 10).

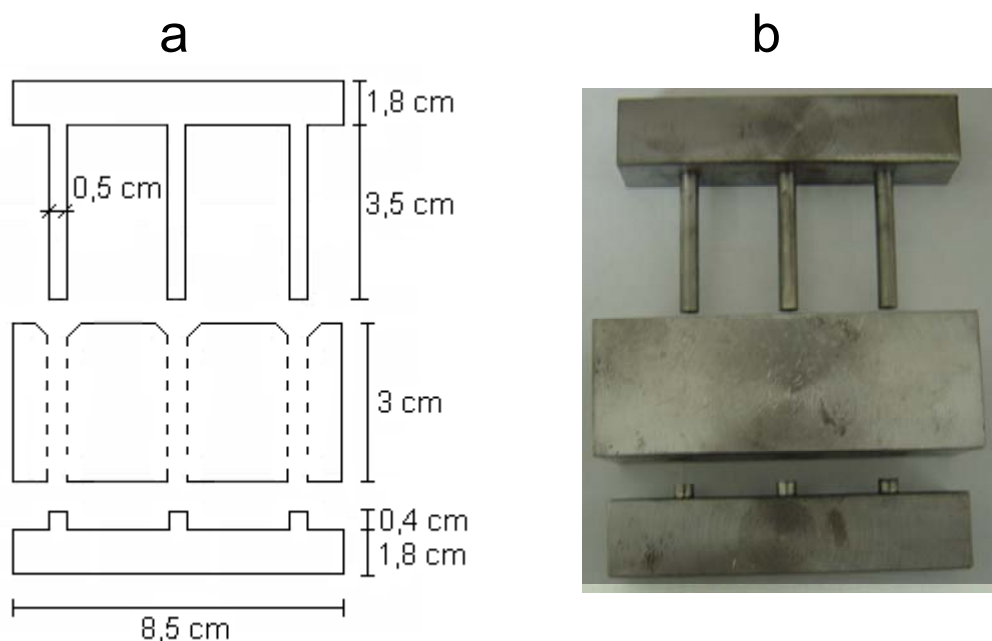


Figura 10. a) Diagrama esquemático da prensa utilizada para a produção das pastilhas e b) fotografia da prensa.

3.4 Sistemas utilizados para a análise de sólidos

Foram utilizados dois sistemas para análise de sólidos: *i*) análise direta de sólidos por GF AAS e *ii*) análise de sólidos por F AAS. O primeiro é um sistema comercial e o segundo é semelhante ao sistema utilizado, recentemente, por Costa ²⁴, para a determinação de cádmio em amostras biológicas transformadas em comprimidos ou pastilhas.

3.4.1 Sistema para DSS-GF AAS

A ilustração do sistema de introdução de amostras sólidas mod. AAS5 SOLID (SSA5, Analytik Jena GMBH, Germany) está demonstrada na Figura 11. As amostras secas foram pesadas diretamente na plataforma e, com auxílio da pinça metálica foram introduzidas dentro do atomizador (Figura 11a). O sistema de introdução de amostra sólida instalada no GF AAS está mostrado na Figura 11 b.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

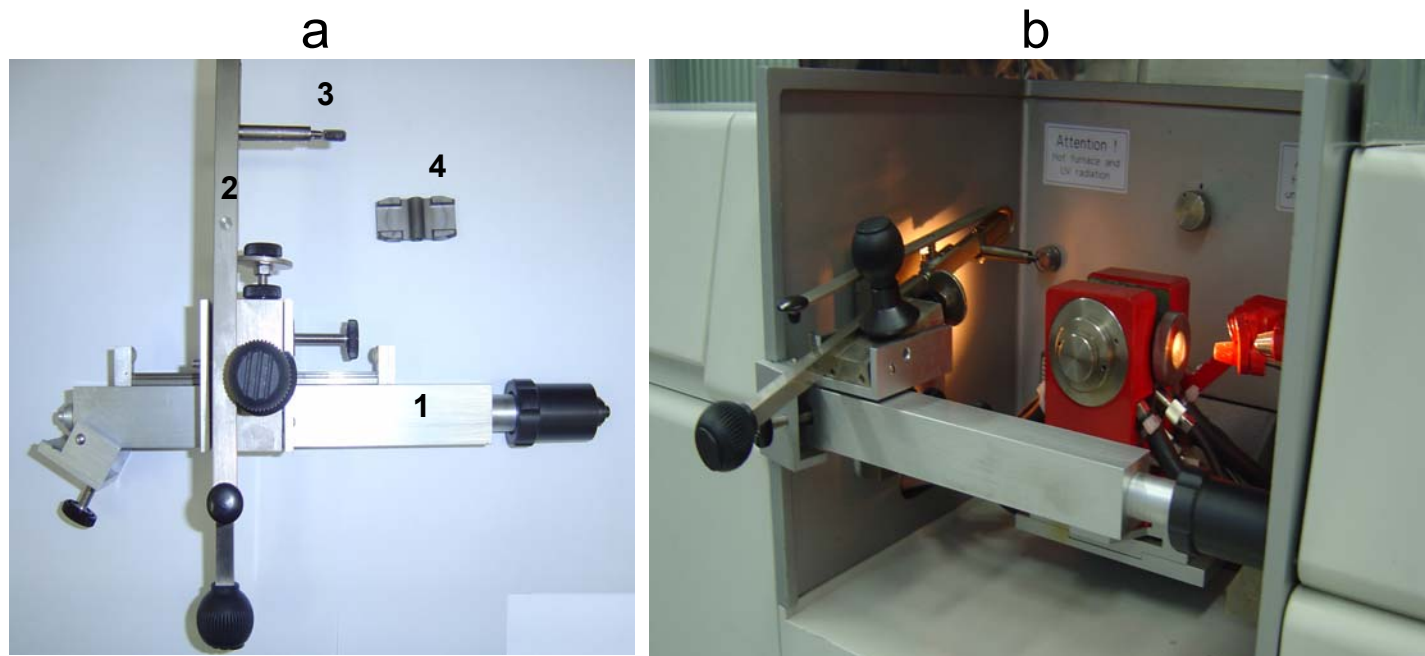


Figura 11. Análise direta de sólidos por GF AAS. a) sistema de introdução de amostras sólidas mod. AAS5 SOLID. 1 – módulo principal fixado no compartimento do forno de grafite, 2 – pinça metálica conectada no módulo principal, 3 – plataforma de grafite, 4 - forno de grafite. b) sistema instalado.

3.4.2 Sistema para SS-F AAS

O sistema utilizado para determinações por SS-F AAS (Figura 12) é constituído de um tubo de quartzo de 8 mm de diâmetro interno, instalado entre o queimador e a posição da passagem do feixe óptico do instrumento. Na parte superior, possui uma fenda de 2 mm de largura, posicionada em paralelo com a fenda do queimador e com o caminho óptico. A introdução da amostra é feita através de uma pequena abertura (7 x 13 mm) (Figura 12a), na parte superior do tubo, e o transporte desta até a extremidade do tubo é feita por um êmbolo, também confeccionado de quartzo. Neste êmbolo é introduzido oxigênio para facilitar a combustão das amostras. O fluxo de oxigênio também produz um isolamento térmico que impede o retorno dos gases gerados durante a combustão da amostra, os detalhes e a ilustração do sistema podem ser observados na Figura 12, enquanto que na Figura 13 pode-se observar o sistema proposto instalado no espectrômetro de absorção atômica (mod. AAS Vario 6 - Analytik Jena) utilizado.

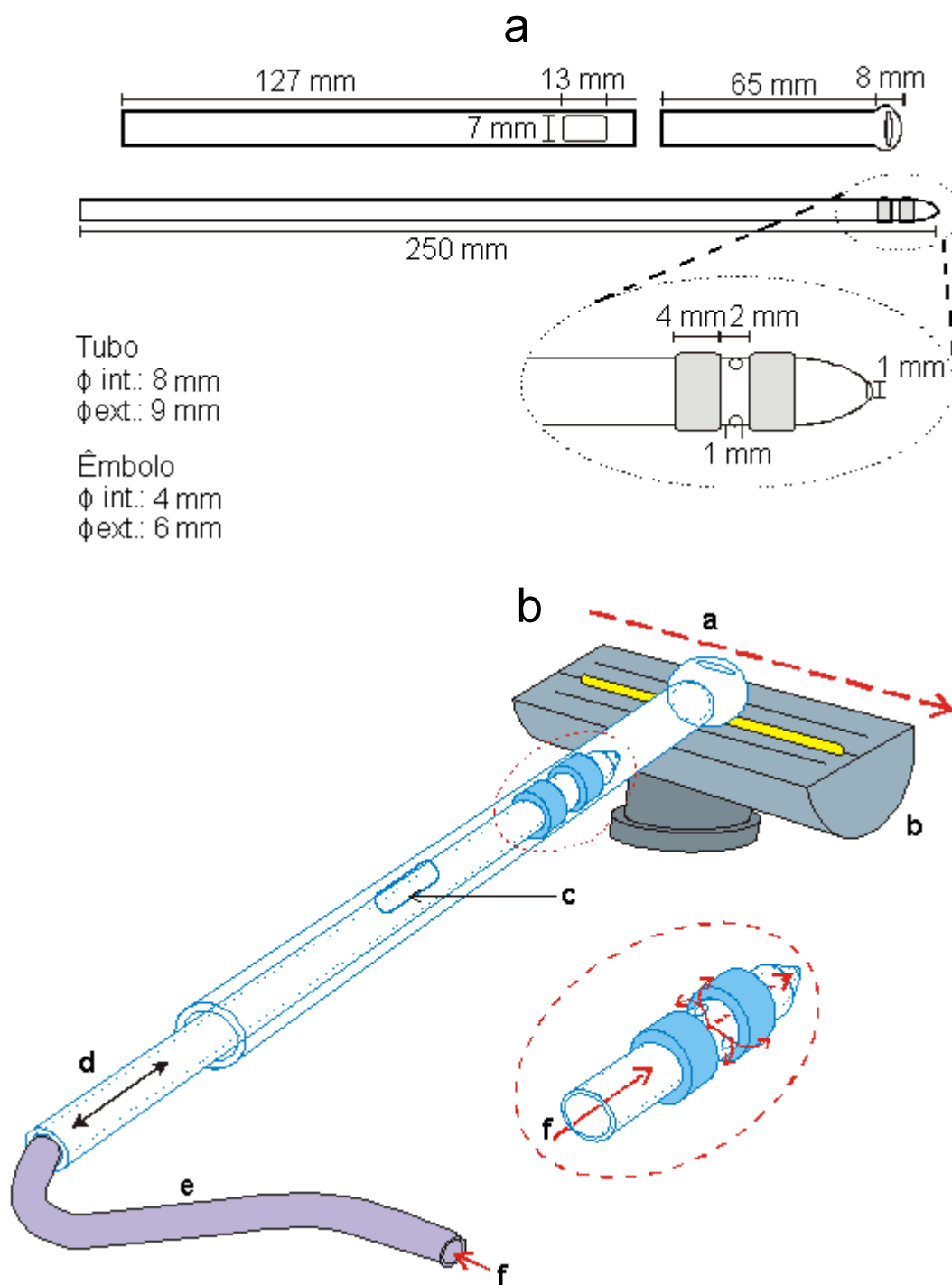


Figura 12. a) Detalhes do sistema de introdução de amostra na chama e b) ilustração do sistema utilizado neste estudo (adaptado de Costa ²⁴). a) feixe óptico, b) queimador, c) abertura para introdução da amostra, d) êmbolo de quartzo, e) mangueira flexível e f) fluxo de O₂.

²⁴ Costa, A. B. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM, Santa Maria, RS, 2004.

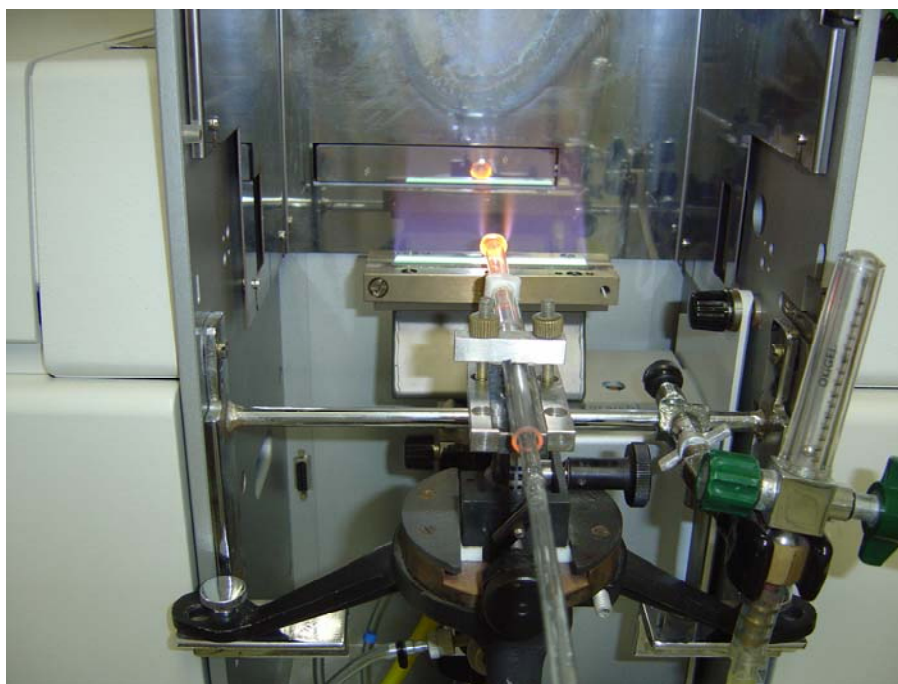


Figura 13. Sistema de amostragem de sólido empregado neste estudo instalado no espectrômetro de absorção atômica mod. AAS Vario 6 (Analytik Jena).

3.5 Amostras

Os materiais de referência certificados (CRM) utilizados neste estudo, foram obtidos do *National Institute of Standards and Technology* (NIST) e do *Bureau Community of Reference* (BCR).

A Tabela 6 mostra as concentrações de cádmio, cobre e chumbo nos materiais de referências utilizados.

Tabela 6. Concentração de cádmio, cobre e chumbo nos materiais de referência certificados utilizados neste estudo.

| Amostra | CRM | Valores certificados ($\mu\text{g g}^{-1}$) | | |
|---------------------|-----------|---|-----------------|-------------------|
| | | Pb | Cu | Cd |
| <i>apple leaves</i> | NIST 1515 | $0,470 \pm 0,024$ | $5,64 \pm 0,24$ | $0,013 \pm 0,002$ |
| <i>olive leaves</i> | BCR 62 | $25,0 \pm 1,5$ | - | $0,10 \pm 0,02$ |

Também foram utilizadas outras amostras de plantas de diferentes origens. As amostras de carvalhinho (*Casearia sylvestris*) foram coletadas na região do município de Santa Maria - RS. Três outras amostras foram adquiridas no comércio local: i) boldo (*Peumus boldus*), ii) Ginseng Brasileiro, fitoterápico, composto por *Pfaffia sp* e iii) Composto Vegetal Diurético[®]. O Composto Vegetal Diurético[®], denominado neste estudo por diurético, é formado por uma mistura de plantas medicinais: quebra-pedra (*Phyllanthus niruri L*), uva-ursi (*Arctostaphylos officinalis*), chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*), cipó-cabeludo (*Mikania kirsutissima*) e abacateiro (*Persea Americana C bauh*).

As amostras de plantas medicinais foram, inicialmente, secas em estufa a 70 °C por 24 horas. Após, foram trituradas manualmente, cominuidas em moinho criogênico e peneiradas, até que toda a amostra apresentasse partículas com diâmetro inferior a 80 µm. Em seguida, as amostras foram secadas em estufa a 70 °C, até massa constante, e armazenadas em frascos de polipropileno em dessecador, sob vácuo, até o momento de uso. As amostras de referência foram secas a 70 °C sem nenhum outro tratamento prévio.

3.6 Preparo das pastilhas

Para a produção das pastilhas, inicialmente foram pesadas diferentes massas de amostras e grafite, em frascos de polipropileno. Após, foram colocadas duas esferas de vidro nos frascos e estes foram agitados manualmente por 5 minutos, para garantir a homogeneização da mistura. Desta mistura inicial foram retiradas alíquotas diferentes para serem introduzidas na prensa. A Figura 14 mostra as pastilhas prontas, onde pode ser observado o seu tamanho original de 0,5 mm de diâmetro.

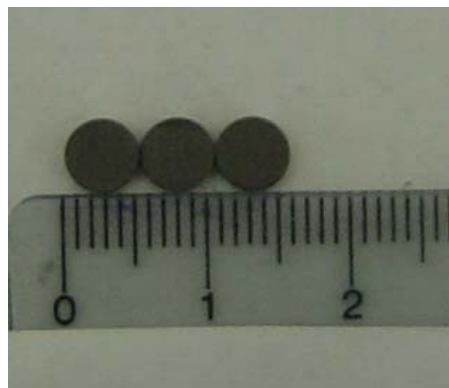


Figura 14. Amostras misturadas com grafite e prensadas, sob a forma de pastilha.

3.7 Decomposição das amostras

Para comparação com os resultados dos procedimentos propostos, as amostras foram também decompostas em forno de microondas. Foram transferidos de 100 a 300 mg de amostra para recipientes de quartzo de 80 mL, onde foram adicionados 3 mL de HNO₃ concentrado. Após, os frascos foram fechados e mantidos à temperatura ambiente por 4 horas. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de H₂O₂ 30% (m/v) e, novamente, os frascos foram mantidos à temperatura ambiente por 4 horas. Após, os frascos foram fechados e o programa de aquecimento do forno de microondas foi executado conforme mostrado na Tabela 7. Após arrefecimento, as soluções das amostras decompostas foram diluídas a 20 mL com água, inclusive o branco.

Tabela 7. Programa do forno de microondas para decomposição das amostras.

| Etapa | Potência (W) | Rampa (min) | Tempo (min) | Ventilação (min) |
|-------|-----------------|----------------|----------------|---------------------|
| 1 | 1400 | 5 | 15 | 1 |
| 2 | 0 | 0 | 20 | 2 |

3.8 Calibração

3.8.1 Análise das amostras por DSS-GF AAS

As curvas analíticas utilizadas para a calibração foram preparadas com o material de referência certificado ou com solução de referência. Os resultados encontrados foram comparados com os obtidos por decomposição ácida e determinação por GF AAS.

3.8.2 Análise das amostras por SS-F AAS

As curvas analíticas utilizadas para a calibração do sistema empregado foram preparadas com pastilhas de grafite e a estas foram adicionados diferentes volumes de soluções de referência aquosa, ou mediante mistura do material de referência certificado com grafite como foi descrito no item 3.6. Os resultados obtidos com este sistema foram comparados com os obtidos pela decomposição das amostras e determinação por GF AAS.

O fluxograma apresentado na Figura 15 resume os procedimentos utilizados para o preparo das amostras, a partir de amostras secas, para a determinação de cádmio, cobre e chumbo por GF AAS, DSS-GF AAS e SS-F AAS.

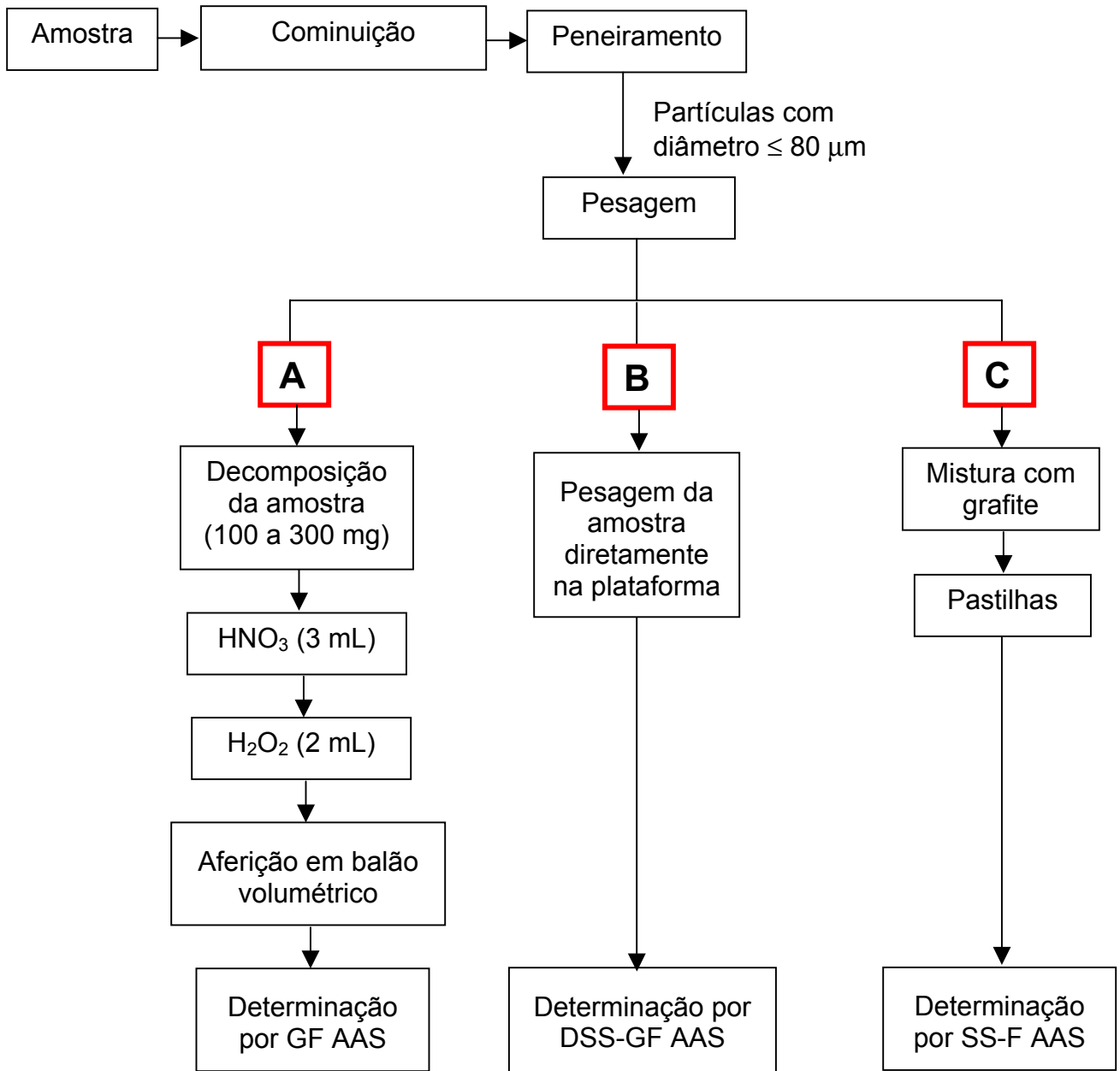


Figura 15. Fluxograma dos procedimentos utilizados.