

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

JULIO CEZAR PAZ DE MATTOS

**INFLUÊNCIA DE MODIFICADORES ORGÂNICOS NA
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM AMOSTRAS DE SUPLEMENTOS
DE CÁLCIO POR GF AAS**

UFSM

Santa Maria, RS -Brasil

2004

**INFLUÊNCIA DE MODIFICADORES ORGÂNICOS NA
DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM AMOSTRAS DE SUPLEMENTOS
DE CÁLCIO POR GF AAS**

por

JULIO CEZAR PAZ DE MATTOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE EM QUÍMICA**

Santa Maria, RS - Brasil

2004

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

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUÊNCIA DE MODIFICADORES ORGÂNICOS NA DETERMINAÇÃO DE
CHUMBO EM SUPLEMENTOS DE CÁLCIO POR GF AAS**

elaborada por
Julio Cezar Paz de Mattos

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Érico de Marlon Moraes Flores

Adilson José Curtius

Dirce Pozebon

Santa Maria, 04 de Março de 2004

Este trabalho é dedicado a minha família, em especial aos meus pais Cacilio e Jurema, que sempre me apoiaram nas horas difíceis e confiaram em meu potencial, a meus irmãos Marcelo e Viviane e a minha namorada Vanessa pela compreensão, estímulo e carinho em todas as horas

"Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode, que o medo impeça de tentar. Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando porque, embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu".

(Luiz Fernando Veríssimo)

AGRADECIMENTOS

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

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores**, pelo exemplo profissional, apoio, confiança, formação e pelas oportunidades de crescimento profissional e pessoal, além da orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. **Valderi L. Dressler**, pelas valiosas sugestões, pelo apoio e contribuição durante a execução deste trabalho e pelo exemplo de conduta moral e profissional e pela amizade.

Ao Prof. Dr. **Adilson J. Curtius**, pelas sugestões feitas para o aprimoramento deste trabalho e pela participação como banca examinadora.

A Prof. Dra. **Dirce Pozebon** pela amizade, pela contribuição dada para a execução deste trabalho e pela participação como banca examinadora.

Aos amigos do Setor de Química Industrial e Ambiental pela amizade, incentivo e companheirismo em todos os momentos.

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xvi
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (GF AAS)	4
2.1.1. Antecedentes	4
2.1.2. Características da técnica.....	6
2.1.3. Modificadores químicos.....	8
2.1.3.1 Aspectos gerais.....	8
2.1.3.2 Modificadores do grupo da platina	11
2.1.3.2.1 Formação de carbetos	11
2.1.3.2.2. Compostos intercalados em grafite.....	13
2.1.3.3. Compostos orgânicos como modificadores químicos	19
2.1.3.3.1. Mecanismo de ação dos modificadores químicos baseados em compostos orgânicos	19
2.1.4. Determinação de chumbo em suplementos alimentares a base de cálcio.....	23
2.1.4.1. Variação temporal de chumbo em suplementos de cálcio.....	29

3. MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1. INSTRUMENTAÇÃO	32
3.2. REAGENTES	32
3.3. MATERIAIS DIVERSOS	33
3.3.1. Amostras	33
3.4. PROCEDIMENTOS DE DECOMPOSIÇÃO	34
3.4.1. Decomposição em sistema aberto	34
3.4.2. Decomposição com ácido nítrico (temperatura ambiente)	34
3.4.3. Decomposição em sistema pressurizado com aquecimento convencional (sistema de Berghoff)	35
3.4.4 Decomposição assistida por microondas	35
3.5. PROCEDIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO, CÁLCIO E MAGNÉSIO	36
3.5.1. Procedimentos para determinação de chumbo	36
3.5.1.1. Calibração por adição de analito	36
3.5.1.2. Calibração por correção de matriz.....	37
3.5.1.3. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite.....	38
3.5.2. Procedimento para determinação de cálcio	39
3.5.3. Procedimento para determinação de magnésio	39
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	41
4.1. Amostras	41
4.2. EFEITO DE PALÁDIO, ÁCIDO CÍTRICO, ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO OXÁLICO COMO MODIFICADORES QUÍMICOS	43
4.2.1. OTIMIZAÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO	44

4.2.1.1. Estudos sem modificador químico	45
4.2.1.2. Efeito de paládio como modificador químico	46
4.2.1.3. Efeito de ácido cítrico como modificador químico	48
4.2.1.4. Comparação dos efeitos de paládio e ácido cítrico	51
4.2.1.5. Comparação dos efeitos dos ácidos cítrico, ascórbico e oxálico	53
4.2.1.6. Deslocamento do sinal analítico em relação a concentração de modificadores orgânicos	55
4.3. DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM AMOSTRAS DE CARBONATO DE CÁLCIO REFINADO, DOLOMITAS E CONCHA DE OSTRAS	57
4.3.1. Calibração	57
4.3.2. Resultados	59
4.3.3. Figuras de mérito	60
4.3.4. Comparação da sensibilidade do chumbo em amostra de carbonato de cálcio sem modificador químico e empregando paládio, ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido oxálico como modificadores	61
5. CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das formas de introdução de amostra para GF AAS (adaptação de Sturgeon, 1997).....	7
Figura 2. Possíveis maneiras de atingir a vaporização/atomização seletiva do analito em função da relação entre as volatilidades relativas do analito e da matriz (adaptação de Belarra, 2002)	10
Figura 3. Estrutura hexagonal do grafite, 1- vista lateral, 2-vista axial	14
Figura 4. Composto intercalado, sistema potássio(verde)-amônia(azul-branco)-grafite.....	15
Figura 5. Comparação entre composto ternário de grafite em policamadas (composto grafite-potássio-enxofre) e um composto binário de grafite em monocamada (KC_3). Em preto: átomos de carbono, em vermelho: átomos de potássio e em amarelo: átomos de enxofre.	16
Figura 6. (a) descrição da ligação PdO, (b) intercalação de PdO em grafite, (c) ligação química formada entre os átomos de paládio adjacentes no plano entre as camadas de grafite pela interação dos elétrons π da grafite, (d) interação da grafite com o paládio, com ativação de Pd, que atua como doador de elétrons para outros metais (adaptação de Ortnier 2002 ⁴³).....	18
Figura 7. Fluxograma dos procedimentos empregados	40
Figura 8. Curvas de pirólise e atomização de chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2), alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO_3 a 10% (v/v), sem modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.	45

- Figura 9.** Sinal analítico de chumbo na ausência de modificador químico, , em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); temperaturas de atomização e pirólise de 1800 e 700 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução a 10% (v/v) de HNO_3 ; em vermelho: sinal analítico e em azul: sinal de fundo46
- Figura 10.** Curvas de pirólise e atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na presença de 3 μg de paládio como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.46
- Figura 11.** Sinal analítico para chumbo na presença de 3 μg de paládio como modificador químico em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); temperaturas de atomização de 1800 e 1900 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 μg de Ca em solução a 10% (v/v) de HNO_3 ; em vermelho: sinais analíticos e em azul: sinais de fundo.....47
- Figura 12.** Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na presença de 20, 100 e 200 μg de ácido cítrico como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.....48
- Figura 13.** Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na presença de 20, 100 e 200 μg de ácido cítrico como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo49
- Figura 14.** Sinal analítico de chumbo na presença de 100 μg de ácido cítrico como modificador químico em amostra de carbonato de

- cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); temperaturas de pirólise e atomização de 800 e 1800 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução a 10% (v/v) de HNO_3 , em vermelho: sinais analíticos e em azul: sinais de fundo.....50
- Figura 15.** Sinal analítico de chumbo na presença de 100 μg de ácido cítrico e 3 μg de paládio como modificadores químicos em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); temperaturas de pirólise e atomização de 800 e 1800 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 μg de Ca em solução a 10% (v/v) de HNO_350
- Figura 16.** Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na ausência de modificador químico e na presença de 3 μg de paládio e 100 μg de ácido cítrico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.....52
- Figura 17.** Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na ausência de modificador químico e na presença de 3 μg de paládio e 100 μg de ácido cítrico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.....52
- Figura 18.** Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na 100 μg dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo54
- Figura 19.** Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27

- μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na presença de 100 μg dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo54
- Figura 20.** Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 μg de ácido cítrico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em HNO_3 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão..... 55
- Figura 21.** Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 μg de ácido ascórbico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em HNO_3 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão56
- Figura 22.** Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 μg de ácido oxálico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em HNO_3 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão relativo56
- Figura 23.** Perfil do sinal analítico de chumbo característico para amostras de dolomitas (A) e concha de ostras (B), digeridas com ácido nítrico (item 3.4.4), quando adicionados 100 μg de ácido cítrico como modificador químico 57

Figura 24. Massas características do chumbo em amostra de carbonato de cálcio refinado digerido com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo $27 \mu\text{g}$ de Ca em HNO_3 a 10%.....62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Temperaturas de decomposição térmica de modificadores orgânicos e carbono residual na presença de HNO_3 0,1 mol L^{-1} ; taxa de aquecimento de 10 $^\circ\text{C min}^{-1}$; temperatura final 400 $^\circ\text{C}$ (adaptação de Volynsky, 1993 ⁶⁵)	22
Tabela 2. Equipamento e condições empregadas para a determinação de chumbo por GF AAS	25
Tabela 3. Concentração de chumbo em cinco diferentes tipos de amostras ricas em cálcio medidas por quatro diferentes técnicas analíticas e respectivos limites de detecção dos métodos	25
Tabela 4. Concentração de chumbo em carbonato de cálcio refinado determinada por quatro diferentes laboratórios, empregando três diferentes técnicas	27
Tabela 5. Estudo interlaboratorial envolvendo a determinação de chumbo em suplementos de cálcio por duas técnicas.....	28
Tabela 6. Variação temporal da concentração de chumbo em suplementos de cálcio	30
Tabela 7. Identificação das amostras investigadas no presente trabalho	34
Tabela 8. Programa do forno de microondas para decomposição das amostras	35
Tabela 9. Volumes de amostra, modificador químico e solução de referência adicionados nos copos do amostrador automático do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite.....	37
Tabela 10. Programa empregado no espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite para a determinação de chumbo nas amostras de suplementos de cálcio.....	38
Tabela 11. Parâmetros instrumentais para a determinação de cálcio empregando	

F AAS	39
Tabela 12. Parâmetros instrumentais para a determinação de magnésio empregando F AAS.....	40
Tabela 13. Concentração de cálcio, magnésio e chumbo em amostras de carbonato de cálcio, cálcio de ostras e dolomitas.....	42
Tabela 14. Resultados da determinação de cálcio e magnésio por F AAS em amostras de carbonato de cálcio refinado (C1-C3), dolomitas (D1-D4) e concha de ostras (O1), empregando calibração convencional, usando reagente de Schinkel a 1% como supressor de ionização	42
Tabela 15. Resultados da determinação de chumbo empregando diferentes técnicas de decomposição e de amostras por GF AAS, empregando calibração por adição de analito bem como de correção de matriz e 100 µg de ácido cítrico como modificador químico.....	59
Tabela 16. Comparação entre os limites de detecção de Pb em suplementos de cálcio do presente trabalho com os apresentados por Bourgoïn <i>et al.</i> para diferentes técnicas	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*.
2. EDL, lâmpada de descarga sem eletrodos, do inglês *Electrodeless Discharge Lamp*.
3. F AAS, espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*.
4. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*.
5. HCL, lâmpada de cátodo ôco, do inglês *Hollow Cathode Lamp*.
6. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*.
7. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*.
8. LD, limite de detecção.
9. m_0 , massa característica (massa de analito que produz absorvância igual a 0,0044).
10. MS, espectrometria de massa, do inglês *Mass Spectrometry*.
11. m/v, massa por volume.
12. PTFE, politetrafluoretileno, teflon[®].
13. v/v, volume por volume.

Influência de modificadores orgânicos na determinação de chumbo em amostras de suplementos de cálcio por GF AAS

Este estudo teve por objetivo principal verificar os efeitos de modificadores orgânicos em amostras de carbonato de cálcio, comumente empregados para a produção de suplementos de cálcio, em determinações de chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).

Os estudos foram desenvolvidos com amostras de carbonato de cálcio refinado, dolomitas e concha de ostras. Para isso, foram empregados diferentes procedimentos de decomposição das amostras, bem como diferentes modificadores químicos, entre eles paládio, ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido oxálico, dando-se ênfase para os modificadores orgânicos.

As melhores temperaturas para a determinação de chumbo por GF AAS foram determinadas através das curvas de pirólise e atomização. Com o uso de modificadores químicos orgânicos foi possível diminuir a interferência do sinal de absorção de fundo. Os resultados da determinação de chumbo, empregando diferentes procedimentos de decomposição, foram comparados através de análise de variância.

Os resultados obtidos com o procedimento proposto indicam uma melhora no limite de detecção em relação aos relatados na literatura. Além disso, os modificadores químicos orgânicos são, relativamente, mais baratos. Contudo, devido à falta de material de referência certificado, a exatidão deste procedimento foi avaliada empregando-se a técnica de adição de analito e de correção de matriz para a calibração.

**Influence of organic modifiers for lead determination in calcium supplements
by GF AAS**

The main goal of this study was to evaluate the effect of organic modifiers in the determination of lead in calcium supplement samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS).

Samples of refined calcium carbonate, dolomite and oyster shell were used in this study. For this purpose different decomposition procedures as well as different modifiers were tested (Pd, citric acid, ascorbic acid, oxalic acid). The temperature program for lead determination was determined according to the results from the atomization and pyrolysis curves. With the use of organic modifiers it was possible to reduce the interference of background. The results of Pb determination, using different decomposition procedures, were compared using analysis of variance.

The results using the proposed procedure shown better detection limits that those previously reported in the literature. In addition, the modifiers based on organic compounds are relatively inexpensive. However, in view of the lack of certified reference material the accuracy was evaluated using the addition of analyte and matrix matching techniques for calibration.

1. INTRODUÇÃO

1. Introdução

Suplementos alimentares à base de cálcio têm sido consumidos em larga escala, principalmente, por crianças alérgicas ao leite, gestantes, pessoas que sofrem de osteoporose, entre outros. Existe uma grande variedade de suplementos alimentares à base de cálcio, provenientes de diversas fontes. Entre elas, carbonato de cálcio fossilizado (ex., cálcio de ostras, corais), pó de ossos, dolomitas (mistura de carbonato de cálcio e magnésio), formas sintéticas como carbonato de cálcio refinado, cálcio quelado com diversos ligantes orgânicos como citrato, lactato, gluconato ou aminoácidos.³

A presença de chumbo em suplementos de cálcio (pó de ossos) foi, inicialmente, detectada na década de 60 o que, imediatamente, despertou interesse para novos estudos.¹⁶ No início dos anos 80 foram constatados distúrbios neurológicos em pacientes que usavam, regularmente, suplementos à base de dolomita e pó de ossos. Foi constatado também, que estes pacientes apresentavam uma concentração relativamente alta de chumbo no cabelo.⁴⁶

No início da década de 80, a *US Food and Drug Administration* recomendou cautela no consumo de suplementos de cálcio^{35,58}, devido à

³ AMARASIRIWARDENA, D., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 493-497

¹⁶ CROSBY, W. H., *J. Am. Med. Assoc.* 237 (1977) 2627-2629

³⁵ *Lead in bonemeal*. Washington, DC: *US Food and Drug Administration*, Office of Public Affairs; July 30, 1981

⁴⁶ ROBERTS, H. J., *Soc. Med. J.* 76 (1983) 556-559

⁵⁸ *US Food and Drug Administration: Advice on limiting intake of bonemeal. Food and Drug Administration Drug Bull*, April 1982: 5-6

presença de quantidades relativamente altas de chumbo em alguns destes produtos, principalmente os baseados em dolomita e pó de ossos. A *US Pharmacopoeia for Drugs and Dietary Supplements*, em 1990, limitou a concentração de chumbo nestes suplementos em $3 \mu\text{g g}^{-1}$. No entanto, uma resolução adotada em 1999 pelo Estado da Califórnia, *Proposition 65* (Estados Unidos da América), reduziu este limite para $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$.¹³

Metais em nível de traço, como chumbo e cádmio, estão entre os maiores contaminantes dos suplementos de cálcio, particularmente provenientes de fontes naturais como pó de ossos, cálcio de ostras e dolomitas. Entretanto, diversos estudos vêm demonstrando a presença de chumbo mesmo nas fontes sintéticas.^{6,48} Estudos recentes indicam que mesmo baixos níveis de chumbo, podem estar relacionados com danos cerebrais irreversíveis, hipertensão, distúrbios cardiovasculares, insuficiência renal, redução na produção de esperma e osteoporose.^{41,48}

Não se encontrou na literatura corrente, nenhum método oficial para a determinação de metais em nível de traços neste tipo de amostra, nem mesmo para o preparo das amostras. Adicionalmente, não foram encontrados materiais de referência certificados adequados para avaliar a exatidão de um método envolvendo carbonato de cálcio, dolomita e concha de ostras e com certificação para chumbo em baixas concentrações.⁶ No entanto, para análise de suplementos a base de pó de ossos, existe o material de referência certificado IAEA-H5, osso animal (*International Atomic Energy Agency*). Em vista desta carência o *Institute for National Measurement Standards (INMS)*²⁷ do Canadá, está, atualmente, preparando um novo material de referência certificado de carbonato de cálcio,

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

¹³ California Attorney General's Office. Superior Code Settlement nr. 984503. San Francisco, CA, 15 May, 1997

²⁷ INSTITUTE FOR NATIONAL MEASUREMENT STANDARDS. <http://inms-ienm.nrc-cnrc.gc.ca/calserv/chemical.metrology-e.html>, acessado em 15/02/04

⁴¹ National Research Council. *Measuring Lead Exposure in Infants, Children and Other Sensitive Populations*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1993

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

para finalidades farmacêuticas, com certificação para alguns elementos traço, entre eles o chumbo.

Assim, procedimentos para a determinação de metais em nível de traços em suplementos alimentares a base de cálcio, se fazem necessários, pois se trata de medicamentos de fácil acesso ao público sendo, portanto, uma questão de saúde pública. Sob este aspecto, este trabalho teve por objetivo principal o desenvolvimento de um procedimento para determinação de chumbo empregando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Para isto, foi investigado o efeito de diferentes modificadores químicos, bem como, através da comparação dos resultados de diferentes procedimentos de decomposição.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (GF AAS)

2.1.1 Antecedentes

Em 1955 Allan Walsh⁶⁶ estabeleceu os fundamentos da espectrometria de absorção atômica. No mesmo ano, porém independentemente, Alkemade e Milatz² também publicaram um artigo sugerindo um procedimento semelhante. Entretanto, o trabalho de Walsh foi mais detalhado, examinando a teoria e os princípios básicos envolvidos, as necessidades instrumentais e as vantagens em relação à emissão em chama.^{67A} Já em 1959, Boris L'vov propôs o uso de um forno de grafite como atomizador³⁶, baseando-se no forno de King, projetado em 1905.⁶⁷ A idéia de L'vov era que a amostra deveria ser completamente vaporizada no interior do tubo de grafite e sua absorbância associada ao elemento de interesse e usada para a quantificação do mesmo.^{67A}

O forno de L'vov consistia em um tubo de grafite de 10 cm de comprimento, revestido internamente com uma folha de tântalo para evitar a difusão dos átomos através das paredes do tubo. A amostra era colocada em um eletrodo móvel e este era adaptado ao tubo, formando um arco elétrico. Este era então aquecido e a amostra vaporizada. Este conjunto era montado no interior de

⁶⁶ WALSH, A., *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108-117

⁶⁷ WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

uma câmara contendo argônio e janelas de quartzo, através das quais passava a radiação proveniente de uma lâmpada de cátodo oco. Este arranjo possibilitou a L'vov atingir limites de detecção entre 10^{-10} g e 10^{-14} g, diversas ordens de grandeza melhores que os obtidos na chama.^{36, 67B}

Massman, em 1967³⁷, construiu um forno de grafite que representou um grande avanço no desenvolvimento da técnica GF AAS. Este consistia em uma versão compacta do aparelho de King^{67A}, sendo um tubo de grafite de 50 mm de comprimento aquecido pela aplicação de uma corrente muito alta (500 A) a baixa voltagem, permitindo uma graduação mais exata da temperatura e, portanto, a seleção de melhores temperaturas para as etapas de pirólise e atomização de cada elemento. O forno de Massman não era montado em uma câmara de argônio e, portanto, tinha que ser submetido a um fluxo constante de gás inerte. As amostras eram introduzidas no tubo através de um furo. Com este forno, Massman obteve limites de detecção cerca de 10 vezes piores que os obtidos por L'vov. A razão disto pode ser atribuída ao fluxo de gás inerte, que nos aparelhos modernos é interrompida durante a etapa de atomização.^{67B, 66} Ainda hoje os equipamentos com forno de grafite são baseados no modelo de Massman, diferindo basicamente nas dimensões do tubo, automação, flexibilidade e operacionalidade.

Desde sua introdução comercial, a GF AAS tem sido amplamente aceita como uma técnica de alta sensibilidade e seletividade para a determinação de elementos em concentrações em nível de partes por bilhão (ppb) ou partes por trilhão (ppt). Esta técnica possui muitos atributos, que a tornam adequada para várias amostras ambientais, geológicas, biológicas e farmacológicas.⁵⁴

Metodologias de alta sensibilidade, seletividade e aplicabilidade a amostras reais, além de conveniência e economia, são necessárias. Embora a GF AAS

³⁶ L'VOV, B. V., *Spectrochim Acta* 17 (1961) 761-770

⁶⁶ WALSH, A., *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108-117

⁶⁷ WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51, (B)119, (C)138, (D)189

tenha alcançado grande avanço durante três décadas de uso e seja considerado maduro, estudos continuam sendo realizados com o desenvolvimento de acessórios para a introdução e processamento de amostras, bem como estudos envolvendo modificadores químicos.⁵⁴

2.1.2 Características da técnica

A GF AAS é uma técnica analítica bastante versátil, permitindo a análise direta de líquidos, soluções, bem como amostras sólidas. Entre as vantagens apresentadas por esta técnica podem ser citadas: alta sensibilidade, pequena quantidade de amostra requerida, possibilidade de acoplamento com outras técnicas como espectrometria de massas como, p.ex., espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) ou ainda espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado e vaporização eletrotérmica (ETV-ICP-MS), conforme mostrado na Fig 1.⁵⁴

Devido a sua alta sensibilidade, a GF AAS é comumente a técnica empregada para a determinação de elementos como Cd, In e Pb em amostras geológicas e ambientais.^{52,56} Embora, minerais sejam considerados como de composição química constante, isto não significa que sejam substâncias puras. Durante longos períodos geológicos muitas modificações têm ocorrido o que significa que quase a totalidade dos minerais podem conter elementos estranhos que modificam algumas das suas características. Comumente, estes constituintes minoritários (ou mesmo em nível de traço) despertam grande interesse analítico, seja por seu valor econômico como pelo seu potencial tóxico.⁵²

⁵²STAFILOV, T., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 893-906

⁵⁴STURGEON, R. E., *Spectrochim. Acta* 52 B (1997) 1451-1457

⁵⁶TÜRKER, A. R., *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 329-338

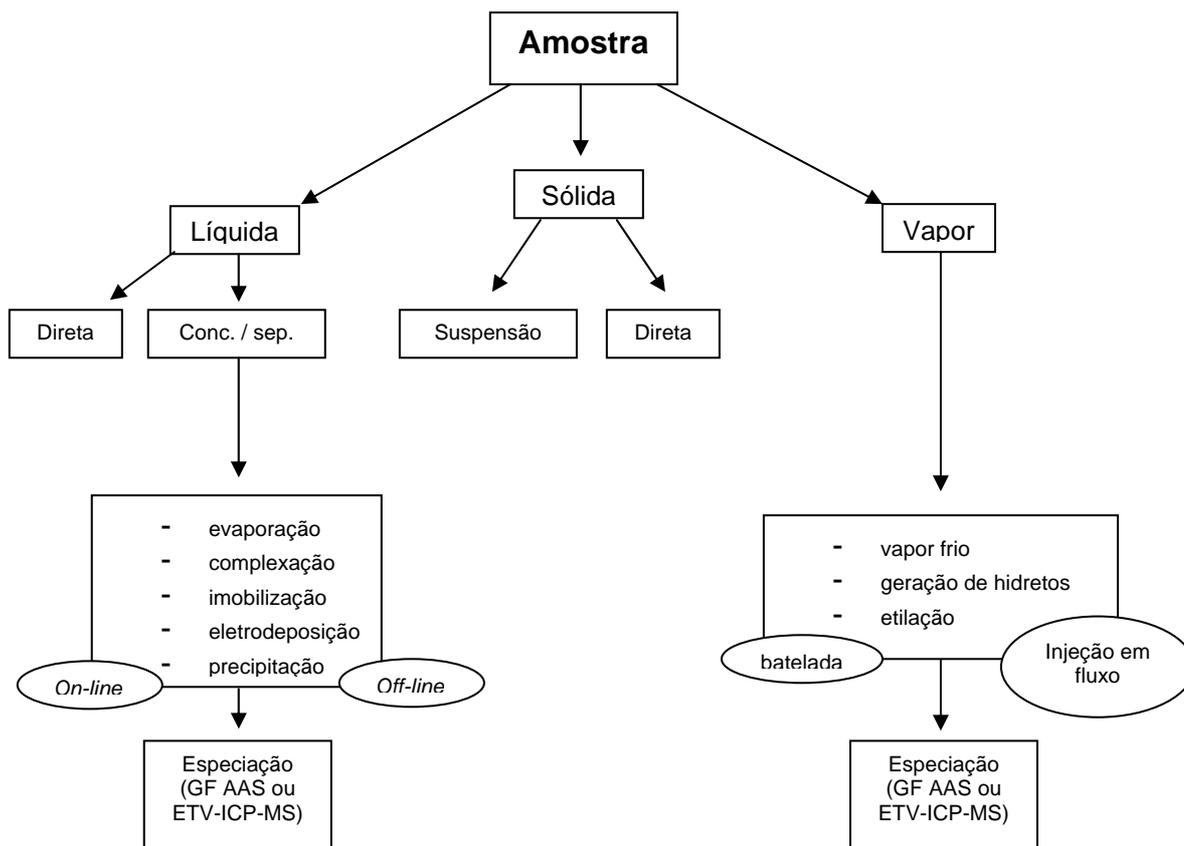


Figura 1 – Representação esquemática das formas de introdução de amostra para GF AAS (adaptação de Sturgeon, 1997⁵⁴).

Contudo, freqüentemente devido a interferências de matriz, algumas etapas adicionais na preparação de amostras minerais se fazem necessárias. De maneira a evitar estas interferências causadas pela matriz da amostra, principalmente, porque estes elementos se encontrarem em nível de traço nas amostras investigadas, algumas vezes pode ser necessária à aplicação de etapas de separação e pré-concentração, como extração líquido-líquido, troca-iônica, precipitação etc.⁵² Com o objetivo de reduzir as interferências, o uso de modificadores químicos torna-se indispensável para a estabilização, principalmente, de elementos voláteis durante a etapa da pirólise com a finalidade

⁵² STAFILOV, T., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 893-906

⁵⁴ STURGEON, R. E., *Spectrochim. Acta* 52 B (1997) 1451-1457

de eliminar ao máximo os constituintes que são potencialmente interferentes da matriz.^{1,52,56,57}

2.1.3. Modificadores químicos

2.1.3.1. Aspectos gerais

Como resultado de estudos teóricos fundamentais, e permanente desenvolvimento na instrumentação, a moderna GF AAS, tem se aproximado da sensibilidade teoricamente atingível para a determinação de muitos elementos. Entretanto, ainda hoje, o desenvolvimento desta técnica é limitado pelos efeitos adversos causados por algumas matrizes em determinadas situações.⁶¹ Um importante passo para a melhora da sensibilidade da GF AAS, foi à introdução do conceito STPF, em 1981, por Slavin.⁵¹ Este conceito inclui as seguintes recomendações:

1. evaporação da amostra a partir da superfície da plataforma de grafite (plataforma de L'vov);
2. uso de tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico;
3. uso de corretor de absorção de fundo eficiente (baseado no efeito Zeeman);
4. atomização sem fluxo de gás inerte no interior do tubo de grafite;
5. eletrônica rápida para a aquisição dos sinais analíticos;
6. cálculo das concentrações dos analitos, preferencialmente, através do uso da área dos sinais analíticos ao invés de altura;
7. uso de modificadores químicos.

¹ AKMAN, S., *et. al.*, *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 2361-2369

⁵¹ SLAVIN, W., *et al.*, *At. Spectrosc.* 2 (1981) 137-145

⁵² STAFILOV, T., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 893-906

⁵⁶ TÜRKER, A. R., *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 329-338

⁵⁷ TÜRKER, A. R., *et. al.*, *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 1635-1641

⁶¹ VOLYNSKY, A. B., *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 2361-2369

Este conceito foi baseado, em grande parte, nas idéias de L'vov e forma a base da moderna GF AAS. A inclusão dos primeiros seis requisitos no projeto da maioria dos espectrômetros de absorção atômica levou a uma drástica melhora nesta técnica e reduziu a dependência na habilidade pessoal do operador. Contudo, uma das mais importantes premissas, o uso de modificadores químicos, comumente não pode ser incorporado ao projeto dos espectrômetros de absorção atômica.⁶⁸

O conceito de modificador químico foi proposto por Ediger em 1973²⁰: “Modificadores químicos podem ser definidos como substâncias que são introduzidos no forno de grafite (atomizador) simultaneamente com a amostra e drasticamente diminuem os efeitos de matriz”.

Um detalhamento, envolvendo as propriedades de um modificador químico ideal foram descritas por Welz e Schlemmer⁶⁸ em 1986 e podem ser assim elencadas:

- ✓ ser efetivo para um grande número de analitos;
- ✓ ser efetivo para diferentes formas de analitos;
- ✓ exibir ou causar baixo sinal de fundo;
- ✓ não causar desgaste ou qualquer efeito negativo na vida útil do tubo de grafite;
- ✓ estar disponível em alta pureza;
- ✓ não é desejável que sejam elementos rotineiramente determinados através da GF AAS (por ex: Pb, Cd, Se, As);
- ✓ deve apresentar baixa toxicidade;
- ✓ ser estável durante longo tempo de estocagem;
- ✓ deve ser de baixo custo.

Além das relevantes demandas citadas podem, ainda, ser incluídas nesta lista:

- ✓ a robustez da ação do modificador⁵

⁵ BELARRA M. A., *Trends in Anal Chem* 21 (2002) 828-839

²⁰ EDIGER, R. D., *At. Absorpt. Newslett.* 14 (1975) 127-130

⁶⁸ WELZ, B., SCHLEMMER, G., *Spectrochim. Acta* 11 B (1986) 1157-1165

- ✓ a possibilidade de alcançar eficácia na ação do modificador sem necessidade de morosa otimização do programa de temperatura.⁶⁰

O mecanismo de ação da maioria dos modificadores químicos consiste na remoção da matriz da amostra na etapa de pirólise, enquanto que compostos do analito permanecem no atomizador.^{62,68} Entretanto, na prática existem muitas situações possíveis que, de maneira geral podem ser reduzidas a três casos gerais conforme mostra o esquema da Figura 2.

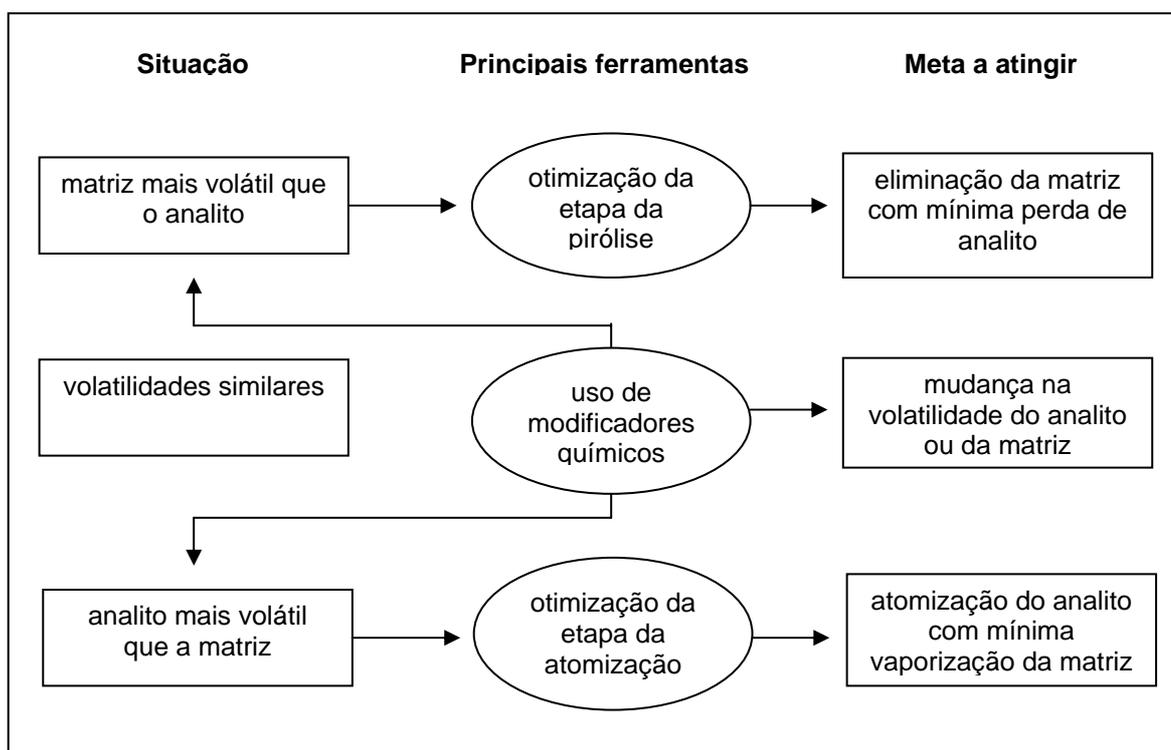


Figura 2- Possíveis maneiras de atingir a vaporização/atomização seletiva do analito em função da relação entre as volatilidades relativas do analito e da matriz (adaptação de Belarra, 2002⁵).

A seleção do melhor modificador químico é de grande relevância para a moderna GF AAS. O uso de um modificador inadequado, além de não eliminar os efeitos da matriz pode, ainda, agravá-los.⁶² A saída natural para a solução do

⁵ BELARRA M. A., *Trends in Anal Chem* 21 (2002) 828-839

⁶⁰ VOLYNSKII A. B., *Spectrochim. Acta* 53 B (1998) 139-149

⁶² VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

⁶⁸ WELZ, B., SCHLEMMER, G., *Spectrochim. Acta* 11 B (1986) 1157-1165

problema de seleção do modificador químico é através do estudo do mecanismo de ação dos mesmos. A compreensão dos processos que ocorrem em atomizadores eletrotérmicos leva a uma simplificação na seleção do modificador para um determinado sistema analito-matriz.⁶² A sensibilidade da GF AAS restringe o número de métodos aplicáveis a concentrações de analito na faixa de 10^{-5} a $10^{-6}\%$. O estudo dos mecanismos no forno de grafite é difícil, principalmente pela ordem de grandeza com que se encontram os componentes da matriz em relação à concentração de analito, comumente na ordem de 10^6 a 10^7 . Estes fatores levam a significativas contradições na descrição do mecanismo de ação dos modificadores químicos por diferentes autores.^{43,62}

2.1.3.2 Modificadores do grupo da platina

Atualmente, compostos metálicos do grupo da platina e, também, dos elementos do grupo 4 a 6 da tabela periódica são os mais efetivos e mais amplamente empregados. Entretanto, diferentes e contraditórios mecanismos tem sido propostos para explicar os efeitos destes modificadores.^{43, 60} Dois conceitos básicos foram desenvolvidos, para explicar a seqüência de processos que levam a estabilização do analito pelos grupos de modificadores mencionados. Estes conceitos são baseados nas principais reações da grafite com diversos elementos e compostos: formação de carbetos e compostos intercalados, os quais serão tratados a seguir.⁴³

2.1.3.2.1 Formação de carbetos

Considerando-se a variedade de compostos inorgânicos formados entre o carbono e os demais elementos, verifica-se que apenas poucos elementos não formam algum composto com o carbono. Os carbetos mais estáveis são aqueles formados com os elementos dos grupos 4 a 6. Estes fazem parte de um grupo de materiais sintéticos de alta dureza, que são extensivamente usados em diversas áreas tecnológicas. Carbetos metálicos também são formados com As, Fe, Mn e P.⁴³

⁴³ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

⁶⁰VOLYNSKII A. B., *Spectrochim. Acta* 53 B (1998) 139-149

⁶²VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

Carbetos de boro e silício exibem alta estabilidade térmica e alto ponto de fusão, assim como aqueles formados pelos elementos dos grupos 11, 12 e 13 da tabela periódica incluindo, também, os elementos do grupo 3 juntamente com os lantanídeos e actinídeos. Muitos destes compostos são decompostos em acetileno pela água e são chamados comumente de acetalidas. Estes são, em parte, responsáveis pela corrosão do tubo de grafite, devido à hidrólise dos carbetos formados. Os elementos do grupo 11 formam uma grande série de compostos intercalados com a grafite. Os elementos dos grupos 16, 17 e o nitrogênio formam compostos covalentes líquidos ou voláteis com o carbono e, possivelmente, a formação de carbetos gasosos tenha um importante papel na corrosão do tubo de grafite.⁴³

Alguns carbetos são os compostos mais estáveis termicamente conhecidos, como HfC, TaC, ZrC e NbC, com pontos de fusão em torno de 3500 °C. Suas temperaturas de formação ocorrem bem abaixo de seus pontos de fusão, por exemplo: WC de 1500 a 1700 °C, TaC a 1600 °C e TiC entre 2000 e 2200 °C.⁴³

Alguns destes elementos são efetivos modificadores permanentes, especialmente Hf, Mo, Nb, Ta, W e Zr e algumas matrizes são melhor decompostas durante a pirólise devido à atividade catalítica dos carbetos formados por estes elementos. O uso de modificadores permanentes leva a um aumento da vida útil dos tubos de grafite, o que pode ser explicado pela resistência dos carbetos refratários ao ataque de muitos ácidos ou misturas destes.^{43,60} No entanto, a formação de carbetos piora o limite de detecção de elementos que reagem com o carbono, especialmente os lantanídeos, actinídeos, elementos dos grupos 4 a 6, B e Si. A formação destes compostos torna-se mais prejudicial ainda se a estabilidade térmica do carbeto exceder a temperatura de pirólise e, principalmente, se ela for igual ou superior a temperatura de atomização.⁴³

Sabe-se, a partir da química destes compostos, que carbetos metálicos refratários são facilmente oxidados na superfície da grafite. Também é conhecido que alguns óxidos metálicos formam ligas quando misturados a carbetos

⁴³ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

metálicos refratários e estes exibem uma alta estabilidade térmica. Oxiânions são conhecidos por formarem hetero-poli-ácidos com iso-poli-ácidos de metais refratários em meio acidificado. Estes hetero-poli-ácidos vão ser desidratados durante a etapa da pirólise e convertidos em uma grande quantidade de óxidos termicamente estáveis. Até o momento, no entanto, não houve condições de estudar a formação dos compostos analito-modificador nas concentrações em nível de traço como as presentes no forno de grafite. Entretanto, a quebra destas ligações em altas temperaturas pela reconversão dos óxidos do modificador a carbetos com formação de CO pode participar da subsequente atomização do analito, carregando o vapor atômico do analito para a atmosfera do tubo. A subsequente introdução da amostra irá, novamente, levar a oxidação da superfície dos carbetos refratários dos modificadores para formar hetero-poli-ácidos com os analitos introduzidos. Isto explica porque um tratamento oxidativo da superfície da grafite aumenta a retenção do analito em alguns casos.⁴³

2.1.3.2 Compostos intercalados em grafite

O material preferido para a fabricação de tubos de grafite e outras partes é o grafite eletrolítico policristalino. Este material pode ser facilmente trabalhado e possui propriedades térmicas e elétricas apropriadas. Entretanto, em altas temperaturas este material tem sua porosidade aumentada, e conseqüentemente, permite a difusão de átomos metálicos através de suas paredes. Para prevenir estas perdas, tem sido empregado um revestimento de grafite pirolítico.⁶⁷

O alto ponto de sublimação da grafite permite que ele participe de reações em altas temperaturas, como as de atomização em GF AAS. Em monocristais de grafite ideais, como o grafite pirolítico, altamente ordenados, os átomos de carbono estão arrançados em camadas planares paralelas, sendo à distância entre elas de 3,3538 Å em temperatura ambiente. Em cada uma destas os átomos de carbono formam uma rede regular de hexágonos (Fig. 3), sendo à distância carbono-carbono de 1,415 Å. Em uma grafite ideal, a interação entre as

⁴³ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

⁶⁷WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

camadas planares é pequena se comparada as das ligações entre os carbonos ligados entre si na rede cristalina.⁹

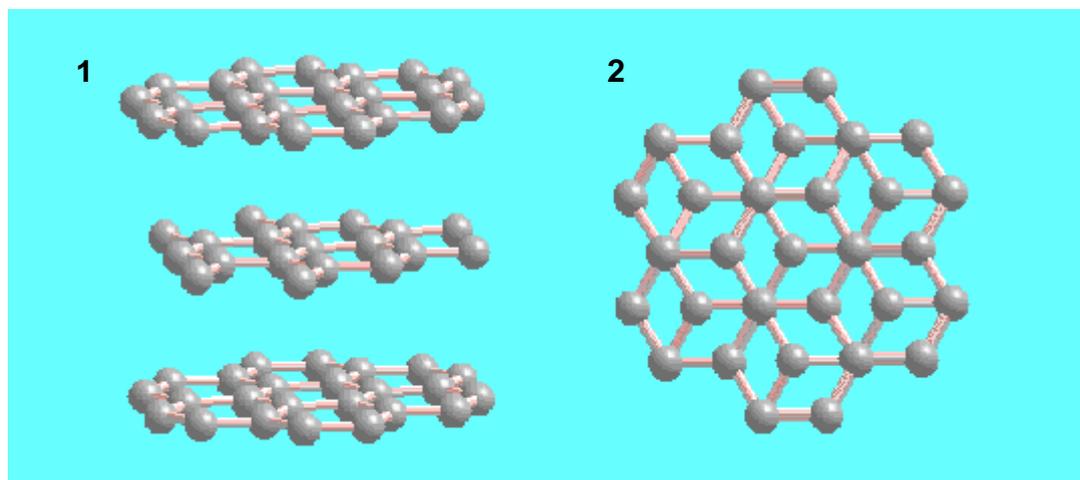


Figura 3- Estrutura hexagonal da grafite, 1- vista lateral, 2-vista axial.³⁹

No entanto, hexágonos de carbono em grafites industrializadas podem não ser tão regulares assim, existindo dois tipos de defeito na estrutura: desordem entre as camadas planares e/ou problemas com as ligações na rede cristalina.^{9,43}

A formação de numerosos compostos na forma de cristal pela intercalação de vários aditivos é associada à estrutura em camadas da grafite (Fig. 4). Movimentos relativos das camadas podem ocorrer durante sua expansão e contração, isto pode levar a um deslocamento de um aditivo entre os vários planos sucessivos, a intercalação e sua posterior eliminação durante as etapas de atomização ou de limpeza.^{9,43}

⁹ BULSKA E., ORTNER H. M., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 491-499

³⁹ MICHIGAN TECHNOLOGICAL UNIVERSITY, <http://www.phy.mtu.edu/>, acessado em 10/02/2004

⁴³ ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

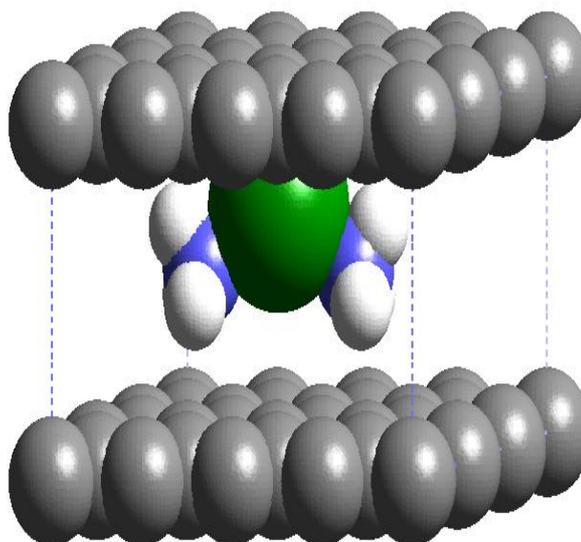


Figura 4- Composto intercalado, sistema potássio (verde)-amônia (azul-branco)-grafite.⁵⁹

A superfície do tubo de grafite participa de uma variedade de processos de oxidação, levando a produtos gasosos, particularmente, em altas temperaturas. Em temperatura ambiente, este pode sofrer poucas reações, entre as quais a formação de um composto cristalino, contudo sua estrutura básica é preservada.⁹ Em analogia com incorporações conhecidas de átomos em pequenas moléculas, é possível supor que possa ocorrer a incorporação de átomos, como no caso de O, S, Se, As, N e P, na rede de carbonos da grafite, considerando-se que átomos que se situam no lado esquerdo do carbono na tabela periódica irão comportar-se como sítios receptores de elétrons e os situados a sua direita como sítios doadores de elétrons.⁹ A Figura 5 mostra um exemplo de composto intercalado de grafite com potássio e enxofre.

⁹ BULSKA E., ORTNER H. M., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 491-499

⁵⁹ UNIVERSITY COLLEGE LONDON, <http://www.cmmp.ucl.ac.uk/~nts.proj.html>

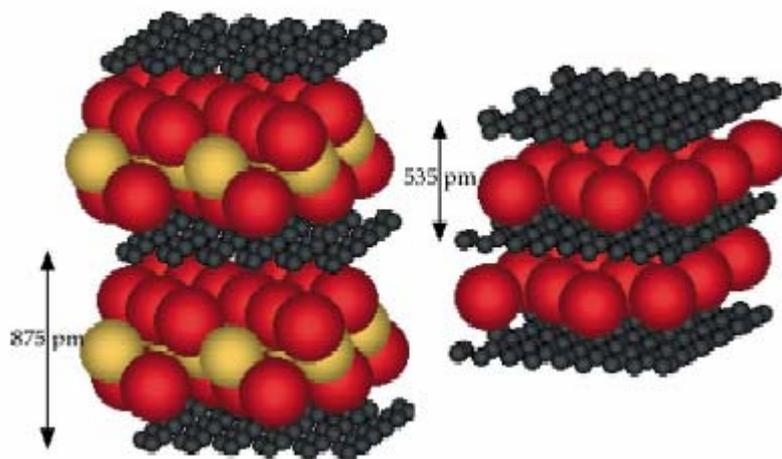


Figura 5- Comparação entre composto ternário de grafite em polícamadas (composto grafite-potássio-enxofre) e um composto binário de grafite em monocamada (KC_3). Em preto: átomos de carbono, em vermelho: átomos de potássio e em amarelo: átomos de enxofre.²⁴

A modificação da superfície da grafite também influencia na formação da nuvem atômica e conseqüentemente no sinal analítico. Entretanto, a atomização dos metais é fortemente dependente da composição da amostra.^{9,43,67}

O uso de modificadores químicos é parte essencial de muitos procedimentos analíticos em GF AAS. A maneira na qual o modificador é introduzido no tubo de grafite é um importante fator, que influencia seu desempenho durante o processo de atomização do analito. Recentemente, as vantagens do uso dos metais nobres têm sido bastante discutidas.⁹ As vantagens do uso de modificadores do grupo da platina são baseadas na formação e da subsequente ativação dos metais em compostos intercalados na grafite. Estes metais ativados formam ligações covalentes muito fortes com elementos relativamente voláteis, levando a sua estabilização em altas temperaturas. Existem ligações químicas entre o sistema de elétrons π do retículo da grafite e átomos de paládio por exemplo, na superfície externa do *cluster* Pd-grafite. Os elétrons que faltam para atingir a configuração dos gases nobres para os átomos

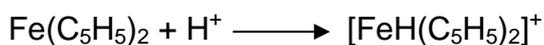
⁹ BULSKA E., ORTNER H. M., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 491-499

²⁴ HÉROLD, C., et al., *Solid State Sciences* 127 (6) (2004) 125-138

⁴³ ORTNER, H. M. et al., *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

⁶⁷ WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

de paládio são, portanto, retirados do sistema π da grafite. Isto causa uma elevação da densidade eletrônica nestes átomos, que são ativados para uma interação, por exemplo, com $\text{As}(\text{OH})_3$, funcionando como doadores de elétrons. Isto pode ser comparado às propriedades dos ferrocenos²¹, onde o átomo de ferro também atua como doador de elétrons:



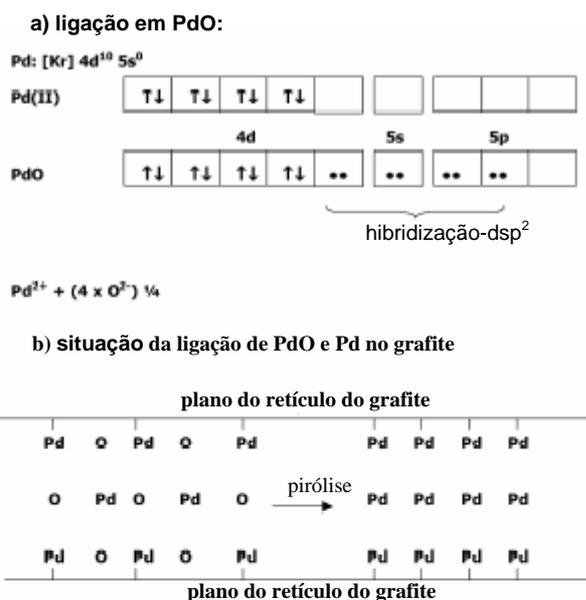
Se o paládio atuasse como receptor de elétrons, então analitos com alto estado de oxidação (exemplo As^{5+} ou cátions metálicos como Cd^{2+} ou Pb^{2+}) não poderiam estabelecer este tipo de interação com este elemento. A ligação entre o sistema de elétrons π do retículo da grafite e os átomos de paládio na periferia do cluster são simbolizados pela linha perpendicular na Figura 6. Deste modo, estes átomos reagem, por exemplo, com ácido arsênico da mesma maneira indicada na Figura 6. Convém enfatizar, que apenas átomos de paládio ligados ao *cluster* serão ativados.⁴³

Isto está de acordo com a observação de que o analito já estaria ligado durante a etapa de secagem. Esta ligação não é destruída pelo aumento da temperatura, apesar da redução do paládio ocorrer nas condições de pirólise. Também pode se enfatizar que o domínio do paládio como modificador encontra-se em uma região abaixo da superfície da grafite, em uma profundidade em torno de 10 μm , equivalente ao volume da porosidade aberta e domínios adjacentes entre as camadas de grafite da estrutura policristalina. Também pode ser mencionado que a forte ligação do analito ao paládio, praticamente, suprime sua mobilidade na temperatura de pirólise. Assim, analitos não podem difundir nem mesmo através da superfície quente do tubo.⁴³ Na Figura 6b pode-se observar a intercalação de PdO na grafite. Estudos levaram a conclusão que existe a formação de clusters com diâmetros de muitos micrometros e altura de 1 a 2 nm quando o paládio está intercalado próximo a superfície da grafite pirolítico. Com o aumento da temperatura na etapa da pirólise ocorre a redução de PdO na superfície quente do tubo com a conseqüente evolução de CO. É possível, também, a formação de um pouco de O_2 sem a ação redutora do carbono.

²¹ ESCHENBROICH, C., SALZER, A., *Organometall. Chem.*, (1998) 366-438

⁴³ ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

Freqüentemente, o uso vantajoso dos modificadores deve-se à formação de compostos intercalados com a grafite. Isto leva a ativação destes elementos, principalmente no que diz respeito à retenção dos mesmos, especialmente de analitos facilmente volatilizáveis. Em alguns casos, os analitos ligam-se tão fortemente aos constituintes intercalados da matriz que a sua determinação por GF AAS torna-se impossível especialmente na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} .⁴³



Ligação do analito a átomos de paládio, em analogia a outros compostos organo-metálicos.

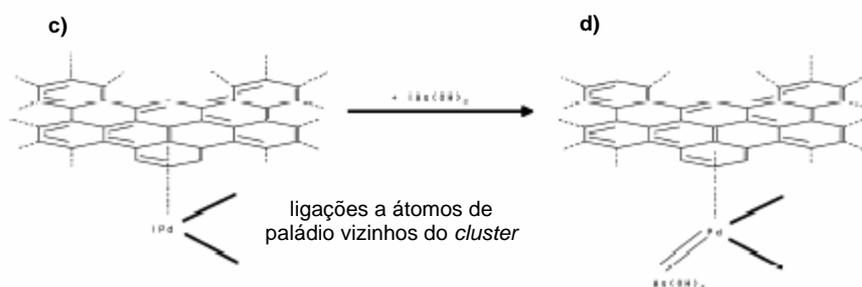


Figura 6. (a) descrição da ligação PdO: ligação do Pd^{2+} com $(4 \times \text{O}^{2-})$ levando a hibridização para dsp^2 , com orbitais 5p não preenchidos completamente. O número de coordenação do paládio com os quatro oxigênios leva a formação de ligações covalentes polares, (b) intercalação de PdO em grafite, (c) ligação química formada entre os átomos de paládio adjacentes no plano entre as camadas de grafite pela interação dos elétrons π da grafite, (d) interação da grafite com o paládio

leva ativação deste elemento, que atua como doador de elétrons para outros metais (adaptação de Ortner 2002⁴³).

De acordo com o que foi discutido pode se concluir que a grafite tem uma grande influência nas reações que ocorrem no tubo, seja por interação direta com as espécies químicas na fase condensada ou mesmo na fase gasosa.⁹

2.1.3.3. Compostos orgânicos como modificadores químicos

Ácidos orgânicos têm sido, sucessivamente, aplicados como modificadores químicos desde o princípio do desenvolvimento da GF AAS. O primeiro trabalho tratando do uso de Na₄EDTA para a supressão de efeitos de matriz para a determinação de Pb, Cd e Cu em águas por GF AAS foi realizado dois anos antes do surgimento do termo “modificador de matriz”, hoje denominado modificador químico. Atualmente, modificadores orgânicos, principalmente ácido ascórbico, sais de EDTA (NH₄ ou Na) e ácido cítrico tem sido bastante empregados.⁶² Em comparação com os modificadores químicos do grupo da platina (sais destes elementos), os compostos orgânicos são menos efetivos. Entretanto, alguns compostos orgânicos têm sido utilizados com sucesso para a solução de alguns problemas analíticos específicos. Contudo, os processos que levam à supressão dos efeitos de matriz, quando utilizados modificadores orgânicos, têm sido, relativamente, pouco estudados.⁶²

2.1.3.3.1. Mecanismo de ação dos modificadores químicos baseados em compostos orgânicos

A depressão de sinais analíticos em GF AAS por matrizes contendo alta concentração de cloretos tem sido observada e estudada em diversos sistemas químicos. A determinação de elementos, em nível de traços na água do mar, tem especial relevância neste tópico e o conhecimento dos possíveis mecanismos dos efeitos do cloro, bem como os modificadores químicos empregados para sua

⁴³ ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

⁹ BULSKA E., ORTNER H. M., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 491-499

⁶²VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

eliminação têm sido revisados e discutidos.^{8,55} Ácidos orgânicos tem sido sucessivamente aplicados como modificadores químicos desde o princípio do desenvolvimento da GF AAS. Matsuzaki *et. al.*³⁸ demonstraram que o EDTA e seus sais eliminam efetivamente os efeitos de grandes concentrações de íons cloreto e sulfato em alta concentração na determinação de um grande número de elementos. A formação de quelatos de EDTA com os analitos previne eventuais perdas destes na forma de cloretos voláteis durante a etapa da pirólise. Adicionalmente, como resultado de reações de troca, uma significativa quantidade de cloreto é removida do atomizador no início da etapa de pirólise. Uma desvantagem deste procedimento é a necessidade de ajuste de pH das soluções que contenham uma quantidade significativa de elementos que causem interferência na determinação do analito em questão.⁶²

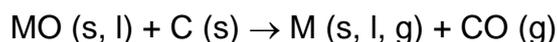
A maioria das hipóteses para explicar o mecanismo de ação destes modificadores é baseada nas características redutoras dos modificadores orgânicos e dos produtos de sua decomposição térmica em atmosfera inerte.^{62,64}

A hipótese de Regan e Warren⁴⁵ está baseada na existência de dois mecanismos principais de atomização para óxidos, em GF AAS:

Dissociação térmica:



Redução carbotérmica:



De acordo com esta hipótese, uma mistura molecular de carbono ativo e componentes da amostra formados durante a decomposição térmica de um modificador orgânico faz com que o mecanismo de atomização predominante seja o processo de redução.^{62,65} A redução carbotérmica leva ao aparecimento de um “pico de baixa temperatura”, enquanto que processos de dissociação térmica de óxidos levam a atomização em temperaturas relativamente mais altas. A mudança

⁸ BYRNE, J. P., *et al.*, *J. Anal. At. Spect.*, 7 (1992) 371-381

³⁸ MATSUZAKI, K., *et al.*, *Anal. Sci.* 15 (2) (1999) 141-144

⁴⁵ REGAN, J.G.T., WARREN J., *Analyst* 101 (1976) 220-221

⁵⁵ TSALEV, D. L., *et al.*, *Spectrochim. Acta Rev* 13 (1990) 225-274

⁶² VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

⁶⁴ VOLYNSKII, A. B., IGNATOVA, S. N., *J. Anal. Chem.* 11 (2001) 1015-1019

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

do sinal analítico para uma temperatura mais baixa e na presença de modificadores orgânicos torna possível a detecção do analito antes do surgimento de um significativo sinal de fundo causado pela evaporação da matriz da amostra, diminuindo drasticamente seus efeitos.^{62,65}

A presença de oxigênio no forno de grafite pode causar problemas na determinação de elementos que formam óxidos estáveis na etapa de atomização. Entretanto, a introdução de modificadores orgânicos diminui a concentração de oxigênio livre na fase gasosa durante a etapa de atomização. Este efeito é controlado, cineticamente, pela interação do carbono com o oxigênio presente no argônio como impureza.^{62,65} A reatividade, com respeito à diminuição da quantidade de oxigênio na unidade de atomização, aumenta na seguinte ordem: grafite pirolítico < grafite policristalino < carbono ativo. Este último é formado a partir da decomposição dos modificadores orgânicos. Esta ordem de reatividade é decorrente da diferença na superfície de contato do carbono com o oxigênio, em uma seqüência crescente, que vai da estrutura cristalina da grafite pirolítico (fechada) para uma estrutura relativamente mais porosa, (como a do grafite policristalino) até uma estrutura amorfa, como a do carbono ativo residual.^{62,65}

Os processos que ocorrem no forno de grafite na presença de um modificador orgânico são complexos e, mesmo para sistemas simples (análises de amostra sem matriz, ex. chumbo em água Milli Q), o mecanismo de sua ação não é claro. No entanto, o decréscimo da temperatura de aparecimento do sinal do chumbo e de alguns outros elementos na presença de ácido ascórbico^{23,25} é usualmente explicado pela mudança na composição da fase gasosa dentro do atomizador. O fato de o ácido ascórbico diminuir a pressão parcial de oxigênio livre na fase gasosa foi investigado Volynsky *et al.*⁶⁵ Posteriormente, Gilchrist *et al.*²², empregando cromatografia a gás e cálculos termodinâmicos, mostraram que o oxigênio livre na fase gasosa interage com produtos gasosos da decomposição térmica (CO, H₂), por exemplo, dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico. Através de análises termogravimétricas, foram determinadas as temperaturas de

²² GILCHRIST, G. F. R. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 5 (1990) 175-181

²³ HAGEMAN, L. R., *et al.*, *Anal. Chem.* 51 (1979) 1406-1412

²⁵ IMAI, S., HAYASHI, Y., *Anal. Chem.* 63 (1991) 772-775

⁶² VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

decomposição térmica bem como o carbono residual fornecido pela decomposição térmica destes. A Tabela 1 mostra as temperaturas de decomposição e o respectivo teor de carbono residual para alguns ácidos orgânicos. Pode-se observar que, com exceção de ácido ascórbico, pouco resíduo de carbono resta após a decomposição térmica destes ácidos orgânicos.

Tabela 1 –Temperaturas de decomposição térmica de modificadores orgânicos e carbono residual, na presença de HNO_3 0,1 mol L^{-1} ; taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} ; temperatura final 400 °C (adaptação de Volynsky, 1993⁶⁵).

Modificador químico	Temperatura de decomposição térmica (°C)	Carbono residual (%)
Ácido oxálico	140	não detectado
Ácido ascórbico	186	32,5
Ácido cítrico	314	5,7

Foi determinado, também, por meio de análise elementar, que os resíduos de carbono deixados por estes modificadores contém quantidades acima de 4% de hidrogênio e entre 10,5 e 34,2% de oxigênio, dependendo da pureza do gás de arraste.

Existem algumas hipóteses sobre a influência do ácido ascórbico na determinação de chumbo, que esta seria causada pela formação de grafite pirolítico na superfície interna do tubo.²⁵ Contudo, nem todos os compostos que deixam carbono residual após a decomposição térmica são capazes de formar grafite em temperaturas entre 2800 e 3000 °C. A relativamente baixa estabilidade térmica do ácido ascórbico (Tabela 3) é característica de materiais que formam carbono não grafitizável na decomposição térmica.⁴² Entretanto, a formação de grafite é possível na presença de alguns metais que catalisam este processo, porém chumbo não é um deles.⁴⁴

²⁵ IMAI, S., HAYASHI, Y., *Anal. Chem.* 63 (1991) 772-775

⁴² OBERLIN, A. *et al.*, *Carbon* 18 (1980) 347-353

⁴⁴ OYA, A., OTANI, S., *Carbon* 17 (1979) 131-137

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

Normalmente a quantidade de modificador orgânico introduzida no tubo de grafite é cerca de 10^5 a 10^6 vezes maior que a de analito. Durante a secagem, é possível que ocorra a co-cristalização⁵⁰ e oclusão do analito nestes cristais³⁴, sendo que os cristais do modificador químico, irão, primeiro depositar-se na superfície do tubo durante a evaporação do solvente. Muitos dos analitos ficarão depositados na superfície destes cristais no final da etapa de secagem e no início da etapa de pirólise estes cristais fundir-se-ão, e serão, parcial ou totalmente, decompostos, fornecendo compostos redutores ativos como hidrogênio e monóxido de carbono.²² Estes podem levar à redução do óxido de chumbo, em temperaturas mais baixas (300 °C).³¹

2.1.4. Determinação de chumbo em suplementos alimentares a base de cálcio

A quantificação de chumbo em suplementos alimentares vem despertando grande interesse, pois a ingestão deste elemento, mesmo em pequena quantidade, por longos períodos, pode ser considerada como potencialmente perigosa. Adicionalmente, vem aumentando nos últimos anos o número de consumidores destes suplementos.⁴⁷

Em 1992, Borgoin *et al.*,⁶ publicaram um estudo interlaboratorial, realizado em quatro laboratórios independentes: *Trent University, Ontario Ministry of the Environment, Nissei Sangyo Canadá e National Research Council of Canada*. Neste estudo, foram analisados suplementos de 3 diferentes marcas de suplementos: carbonato de cálcio de grau analítico e um material de referência certificado, IAEA-H5 (osso animal). O chumbo foi determinado por 4 diferentes técnicas analíticas: voltametria de redissolução anódica (ASV na *Trent University*), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS no

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

²² GILCHRIST, G. F. R. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 5 (1990) 175-181

³¹ KÁNTOR, T., BEZUR, L., *J. Anal. At. Spect.* 1 (1986) 9-17

³⁴ KRASOWSKI, J. A., COPELAND, T. R., *Anal. Chem.* 51 (1979) 1843-1849

⁴⁴ OYA, A., OTANI, S., *Carbon* 17 (1979) 131-137

⁴⁷ ROSS, E. A., *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* 284 (2000) 1425-1429

⁵⁰ SLAVEYKOVA, V. I., TSALEV, D. L., *Anal. Lett.* 23 (1990) 1921-1937

Ontario Ministry of the Environment), espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS na *Nissei Sangyo Canada*) e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS no *National Research Council of Canada*).⁶ As amostras foram, inicialmente calcinadas em mufla a 425 °C, durante 24 h com a temperatura foi sendo gradualmente aumentada, em uma taxa de 100 °C por hora para evitar a combustão das amostras. Uma alíquota das amostras calcinadas foi enviada para o *National Research Council Canada* (NRCC) para subsequente pré-tratamento e determinação por GF AAS⁶ aproximadamente 0,5 g de amostra foram pesadas em frascos de digestão (Teflon) e adicionados 6 mL de HNO₃ concentrado. Os frascos foram fechados e aquecidos em um forno de microondas (modelo CEM MDS 81D), na potência máxima por 20 minutos. A pressão interna dos frascos foi mantida em 310 kPa. Após arrefecimento, os frascos foram abertos e aquecidos com uma lâmpada para evaporação do ácido até cerca de 1 mL e, após as amostras foram diluídas até um volume de 25 mL com água destilada deionizada.

As condições e equipamento empregado para a determinação de chumbo por GF AAS estão na Tabela 2, enquanto que os resultados das determinações pelas diferentes técnicas são mostradas na Tabela 3.

Foram relatadas algumas interferências durante a determinação do Pb por GF AAS, as quais foram atribuídas a reações entre componentes da matriz e o chumbo, que poderiam afetar a vaporização e subsequente atomização deste elemento.⁶

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

Tabela 2- Equipamento e condições empregadas para a determinação de chumbo por GF AAS⁶

Equipamento e condições empregadas para GF AAS	
Laboratório	<i>National Research Council of Canada (NRCC)</i>
Instrumento	Perkin Elmer 5000, HGA-500
Tubo de grafite	com plataforma
Lâmpadas	EDL
Corretor de absorção de fundo	Zeeman
Modificador químico	não foi usado
Comprimento de onda (nm)	283,3
Secagem	140 °C, 20 s
Pirólise	400 °C, 20 s
Atomização	2400 °C, 4 s
Medida do sinal	Área de pico
Calibração	Adição de analito

Tabela 3- Concentração de chumbo em cinco diferentes tipos de amostras ricas em cálcio medidas por quatro diferentes técnicas analíticas e respectivos limites de detecção dos métodos.⁶

Técnica	CaCO ₃ , reagente grau analítico	Marca A	Marca B	Marca C	IAEA CRM H-5, <i>animal bone</i>
ICP-MS ¹	0,25 ± 0,12	3,83 ± 0,25	3,50 ± 0,86	1,39 ± 0,06	2,77 ± 0,26
ASV ²	0,25 ± 0,07	2,89 ± 0,56	3,26 ± 0,31	1,42 ± 0,25	2,87 ± 0,51
GF AAS ³	0,24 ± 0,05	3,25 ± 0,44	3,73 ± 0,62	1,33 ± 0,13	3,09 ± 0,22
F AAS ⁴	0,79 ± 0,17	3,39 ± 0,12	3,56 ± 0,34	1,97 ± 0,29	4,57 ± 1,31

¹ limite de detecção de 0,01 µg g⁻¹

² limite de detecção de 0,12 µg g⁻¹

³ limite de detecção de 0,12 µg g⁻¹

⁴ limite de detecção de 0,5 µg g⁻¹

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

Amarasiriwardena *et al.*³, em 1998, investigaram a presença de chumbo em suplementos de cálcio. Para isso foram empregadas as técnicas, espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e ICP-MS. Foram investigadas 10 amostras comerciais de suplementos de cálcio, provenientes de diferentes fontes de cálcio, como dolomita, pó de ostras mineralizadas, carbonato de cálcio refinado e sintético e cálcio quelado. Para calibração a curva analítica foi preparada em carbonato de cálcio de alta pureza. Os limites de detecção atingidos foram de 14 pg mL⁻¹ e 68 pg mL⁻¹, para ICP-MS e ICP OES, respectivamente.

As amostras (aproximadamente 0,2 g) foram decompostas em triplicata, com ácido nítrico (adição de 2 mL), empregando forno de microondas, à temperatura de 230 °C e pressão de 1,2 x 10⁴ Kpa. Algumas soluções das amostras apresentaram resíduo ao final da decomposição e foram, então, centrifugadas e o sobrenadante analisado. Foram determinadas concentrações variando entre 0,2 e 6 µg g⁻¹. Também foi utilizado o material de referência certificado, IAEA H5 (osso animal), obtendo-se valores de concentração de chumbo dentro do intervalo de confiança deste.³

Em 2000, Scelfo *et al.*⁴⁸ publicaram um trabalho relatando os resultados da análise de 136 amostras de suplementos de cálcio, empregando ICP-MS e GF AAS. Estas eram provenientes de fontes naturais de cálcio, como pó de ossos, dolomitas e cálcio de ostras, ou de fontes sintéticas e/ou refinadas. As amostras foram inicialmente trituradas em gral de ágata e homogeneizadas, após foram transferidas para frascos de politetrafluoretileno (PTFE) e secadas durante uma noite em estufa a 75 °C, resfriadas em temperatura ambiente e pesadas.

Estas amostras foram decompostas empregando 10 mL de HNO₃ de grau analítico. As soluções resultantes foram refluxadas em frascos de PTFE, em chapa de aquecimento, durante 4 h em temperaturas inferiores a 50 °C, e após a 85 °C até ficarem límpidas. Por fim, as amostras foram levadas a secar e o volume retomado até 10 mL com HNO₃ 1 mol L⁻¹.⁴⁸

³ AMARASIRIWARDENA, D., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 493-497

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

Scelfo *et al.*⁴⁸ relataram que quando é empregada a GF AAS, as amostras digeridas precisam estar transparentes e sem cor, indicando a total quebra dos complexos organometálicos, o que pode aumentar o tempo de digestão de 1 a 2 dias para 7 a 10 dias. Os autores tentaram, inicialmente, empregar a GF AAS para a determinação de chumbo em suplementos de cálcio. Neste estudo⁴⁸, foi empregado um espectrômetro com corretor de absorção de fundo pelo efeito Zeeman. Foram relatadas algumas interferências de matriz e, nem mesmo com a adição de modificador químico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) foi possível amenizá-las. Embora tenham utilizado para a calibração o método de adição de analito, ainda assim não foi possível corrigir todos os efeitos de matriz. Assim sendo, medidas subseqüentes foram realizadas por ICP-MS.⁴⁸ Desta forma, para comparar a precisão e a exatidão das medidas de chumbo nestas amostras, foi realizado um estudo interlaboratorial sendo analisada uma amostra de CaCO_3 refinado por quatro diferentes laboratórios. O fabricante deste produto contratou dois laboratórios independentes e um laboratório da *University of Califórnia Santa Cruz* (UCSC). Todos os laboratórios determinaram a concentração de chumbo em CaCO_3 refinado, empregando três técnicas diferentes: GF AAS, ICP-MS (quadrupolar e de alta resolução). A Tabela 4 mostra os resultados deste estudo, observando-se que há uma concordância entre os valores apresentados entre os resultados da determinação de chumbo pelas diferentes técnicas.⁴⁸

Tabela 4 – Concentração de chumbo em carbonato de cálcio refinado determinada por quatro diferentes laboratórios, empregando três diferentes técnicas.⁴⁸

Laboratório	Técnica	Concentração de Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Fabricante	GF AAS	$0,187 \pm 0,006$
Independente A	GF AAS	$0,184 \pm 0,005$
Independente B	ICP-MS (quadrupolo)	$0,177 \pm \text{NI}$
UCSC	ICP-MS (alta resolução)	$0,167 \pm 0,004$

NI: não informado

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

Devido às diferenças de matriz dos diversos suplementos de cálcio e as fontes refinadas (por ex. CaCO_3 refinado), um segundo estudo interlaboratorial foi conduzido, envolvendo dois laboratórios. Este estudo incluiu a análise de 7 diferentes suplementos de cálcio, com uma ou duas amostras para cada tipo de suplemento. Vinte comprimidos de cada produto foram cominuídos, homogeneizados e secos. Em um dos laboratórios as amostras foram decompostas em meio ácido e o chumbo determinado por GF AAS, com corretor de absorção de fundo pelo efeito Zeeman, usando calibração pelo método da adição de analito e modificador químico ($\text{Pd} + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$). No segundo laboratório, as amostras foram decompostas com ácido e medidas por ICP-MS (de alta resolução).⁴⁸

Tabela 5 – Estudo interlaboratorial envolvendo a determinação de chumbo em suplementos de cálcio por duas técnicas⁴⁸

Tipo de amostra	Laboratório 1 (GF AAS) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Laboratório 2 (ICP-MS) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	RSD [*]
Carbonato de cálcio refinado	0,06	0,06	2,4
Concha de ostras – comprimido	1,07	1,21	12
Concha de ostras – comprimido	1,74	1,53	13
Carbonato de cálcio refinado - cápsula	0,99	0,83	17
Cálcio quelado	1,42	1,18	19
Pó de ossos – cápsula	0,48	0,38	24
Dolomita – cápsula	2,60	1,72	41

* desvio padrão relativo

Ross *et al.*⁴⁷, em 2000, analisaram 21 tipos de suplementos de cálcio, empregando GF AAS para determinação de chumbo. As amostras foram decompostas empregando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. As determinações de chumbo nas amostras de suplemento foram realizadas com um

⁴⁷ ROSS, E. A., *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* 284 (2000) 1425-1429

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

espectrômetro com corretor de absorção de fundo baseado no efeito Zeeman, sendo que o limite de detecção obtido foi de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (250 ng g^{-1}).

Os resultados foram expressos considerando a dosagem prescrita para diferentes pacientes, como crianças (800 mg dia^{-1}), pacientes com osteoporose (1500 mg dia^{-1}) e pacientes com problemas renais (6 g dia^{-1}).⁴⁷ Das 21 amostras analisadas, 7 eram provenientes de fonte natural (como cálcio de ostras) e 14 de fontes refinadas, 1 amostra de acetato de cálcio e 1 amostra de fosfato de cálcio sintético. Os resultados obtidos evidenciaram que os 7 produtos naturais tinham concentração de chumbo de, aproximadamente, $1 \mu\text{g dia}^{-1}$, considerando uma dosagem de cálcio de 800 mg dia^{-1} ; entre 1 e $2 \mu\text{g dia}^{-1}$, considerando uma dosagem de cálcio 1500 mg dia^{-1} de cálcio por dia e acima de $10 \mu\text{g dia}^{-1}$, para dosagem de cálcio de 6 g dia . Quatro dos 14 produtos refinados tinham quantidades similares de chumbo, sendo estas superiores a $3 \mu\text{g dia}^{-1}$ (considerando a dosagem de cálcio para pacientes com osteoporose) e acima de $20 \mu\text{g dia}^{-1}$ (considerando a dosagem para pacientes com problemas renais). Não foi detectado chumbo nas amostras de acetato de cálcio. Foi constatado que o chumbo encontra-se presente mesmo nos suplementos fabricados pelas maiores companhias farmacêuticas, até mesmo em produtos que não são baseados em fontes naturais de cálcio.⁴⁷ Desta forma, é importante o desenvolvimento de métodos para a determinação de chumbo, tendo-se em vista a relevância do controle de qualidade destas amostras.

2.1.4.1. Variação temporal de chumbo em suplementos de cálcio

A procura por técnicas e metodologias analíticas para a determinação de Pb em suplementos alimentares à base de cálcio foi estimulada pelas altas concentrações deste elemento encontradas nestas amostras ($20 - 532 \mu\text{g g}^{-1}$), particularmente em suplementos à base de dolomita, pó de ossos e concha de ostras ($4,88 \mu\text{g g}^{-1}$).^{16,18,46} A concentração média de chumbo em cada tipo de

¹⁶ CROSBY, W. H., *J. Am. Med. Assoc.* 237 (1977) 2627-2629

¹⁸ DABEKA, R. W., MCKENZIE, A. D., *J. Assoc. Off Anal. Chem.* 70 (1987) 754-757

⁴⁶ ROBERTS, H. J., *Soc. Med. J.* 76 (1983) 556-559

⁴⁷ ROSS, E. A., *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* 284 (2000) 1425-1429

suplemento adquirido em 1996, foi mais baixa que os primeiros valores publicados. Existe uma diferença estatística significativa entre estes valores (teste t, $p < 0,05$), que sugere uma redução da concentração de chumbo em alguns tipos de suplementos (por ex. pó de ossos, cálcio de ostras e fórmulas para crianças), mas não em outros (ex. dolomita). Parece haver, também, uma grande variação da concentração de chumbo em suplementos de cálcio quelados e refinados, de acordo com a época em que foram executadas as análises.⁴⁸ A Tabela 6 mostra os valores de Pb encontrados por diversos autores em diferentes épocas.

Tabela 6 – Variação temporal da concentração de chumbo em suplementos de cálcio.⁴⁸

Referência	Pó de ossos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Dolomitas ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concha de ostras de ostras ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CaCO ₃ refinado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Crosby 1977 ¹⁶	190 n=1	-	-	-
Capar e Gould 1979 ¹⁴	4,16 ± 1,78 (1,5-8,3) n=20	-	-	-
Roberts 1983 ⁴⁶	9,88 ± 7,32 (2-20) n=8	5,84 ± 7,99 (0,5-19,6) n=8	-	0,30 ± 0,35 (0,08-0,7) n=3
Borgoin et al. 1993 ⁷	2,67 ± 2,74 (0,64-8,83) n=9	1,11 ± 0,71 (0,52-2,52) n=9	2,11 ± 1,33 (0,33-4,88) n=25	0,34 ± 0,24 (0,04-0,92) n=17
Siitonem, Thompson 1994 ⁴⁹	4,27 ± 2,71 (1,21-6,39) n=3	0,94 ± 0,51 (0,55-1,51) n=3	0,67 ± 0,54 (0,17-1,26) n=4	-
Scelfo, Flegal 2000 ⁴⁸	0,60 ± 0,39 (0,21-1,38) n=9	0,97 ± 0,49 (0,39-1,56) n=5	0,88 ± 0,51 (0,12-2,10) n=26	0,73 ± 1,60 (0-10,05) n=37

⁴⁸SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

O aparente decréscimo temporal da concentração de chumbo em pó de ossos e suplementos alimentares à base de cálcio para crianças pode ser atribuído à redução da contaminação ambiental por chumbo, desde a eliminação sistemática da adição de chumbo tetraetila à gasolina à cerca de 20 anos atrás, bem como às melhorias no processamento destes materiais. Os suplementos alimentares, atualmente, são estocados em ambiente livre de contaminação com chumbo. Muitos fabricantes de suplementos alimentares à base de pó de ossos, atualmente, empregam ossos de bovinos e eqüinos jovens, que contém menor contaminação de chumbo. Mais recentemente tem sido empregada somente a medula vermelha destes ossos, a qual contém menos chumbo e é menos sujeita à contaminação que outras partes do osso. Muitos fabricantes que usam conchas de ostras mineralizadas como matéria prima para fabricação de suplementos alimentares à base de cálcio, tem usado depósitos mais antigos, que contém menos chumbo. Estas reduções temporais contrastam com a persistência das concentrações de chumbo em dolomitas nos últimos 20 anos, o que pode ser devido à relativa homogeneidade na concentração de chumbo nestes depósitos.⁴⁸

Apesar do decréscimo da concentração de chumbo em suplementos à base de cálcio, durante os últimos 20 anos, grande parte destes suplementos alimentares não atenderam a proposição 65 da Califórnia, que é de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$.⁴⁸ No Brasil, ainda não existe legislação específica para suplementos alimentares com respeito à presença de metais pesados. Assim, é relevante o desenvolvimento de procedimentos para determinação de elementos traços em amostras de suplementos de cálcio.

⁴⁸SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Todas as pesagens das amostras foram realizadas em uma balança eletro mecânica Metler Toledo (modelo AG245, Alemanha) com resolução de 0,0001 g e tara máxima de 245 g. As determinações de chumbo foram realizadas empregando-se um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Analytik Jena (modelo AAS 5 EA equipado com um amostrador automático modelo MPE 5).

As determinações de cálcio foram feitas empregando-se um espectrômetro de absorção atômica com chama, Analytik Jena (modelo AAS Vario 6, Jena, Alemanha) equipado com um queimador convencional para chama do tipo ar- acetileno com 100 mm de fenda.

Para a decomposição das amostras foram empregados um bloco digestor Velp Scientifica (modelo DK 42, Itália), sistema tipo Berghoff (modelo DAH 902, Alemanha) e um forno de microondas Anton Paar (modelo Multiwave 3000, Graz, Áustria).

3.2. REAGENTES

A água utilizada foi destilada, desionizada em coluna de troca iônica e, posteriormente desionizada em um sistema Milli Q (Millipore, Bedford, USA). Os ácidos nítrico concentrado P.A.(Art. n° 100452.1000, 65% m/m, 1,4 kg L⁻¹, Merck, Darmstad, Alemanha) e clorídrico concentrado P. A. (Art. n° 100318.250, 37% m/m, 1,19 kg L⁻¹, Merck) foram bidestilados em sistema de sub-ebulição Milestone (modelo duoPUR 2.01E, Bergamo, Itália).

As soluções estoque de chumbo, cálcio e magnésio foram preparadas a partir de soluções Titrisol[®] Merck ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ Cat. n°1.09969, com $1000 \pm 0,002 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb em HNO_3 2%), CaCl_2 Cat. n° 1.09943, com $1000 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,002 \text{ g}$ de Ca em HNO_3 2%, MgCl_2 Cat. n° 1.09949, com $1000 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,002 \text{ g}$ de Mg em HNO_3 2%). As soluções de referência foram preparadas a partir da diluição das correspondentes soluções estoque em HNO_3 0,2% v/v.

As soluções de ácido cítrico (Merck Art. n° 244), ácido ascórbico (Merck Art. n° 9215366) e ácido oxálico (Merck Art. n° 9015366) utilizadas foram preparadas através da dissolução de 5 g destas substâncias em água de Milli Q e aferidas a 100 mL.

A solução de paládio foi preparada a partir da solução estoque de $10,0 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 15% v/v, Merck Art. n° 107289); esta foi diluída 10 vezes em frasco de polipropileno empregando HNO_3 0,2 % v/v.

A solução de Schinkel (CsCl $10 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ + La $100 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$, Merck Art. n° 16755) foi preparada a partir da solução estoque ,sendo esta diluída 1:1 em HNO_3 0,2% v/v.

3.3. MATERIAIS DIVERSOS

Toda a vidraria e materiais comuns de laboratório foram lavados por imersão em HNO_3 10% durante 24 horas e, posteriormente, enxaguados com água. A balança e os pipetadores utilizados foram calibrados, antes do início de cada rotina de trabalho, empregando-se pesos para calibração e comparação entre o volume e o peso de água, respectivamente.

3.3.1. Amostras

As amostras de suplementos de cálcio em pó investigadas foram obtidas no comércio (farmácias de manipulação) do município de Santa Maria, RS. Foram obtidas sete amostras (Tabela 7), com diferentes matérias primas, como carbonato de cálcio refinado, cálcio de ostras e dolomitas. As amostras foram moídas em gral de ágata até tamanho de partícula inferior a $50 \mu\text{m}$ obtido através de peneiramento. Posteriormente, estas foram secadas em estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante duas horas e

transferidas para um dessecador, depois de resfriadas as amostras foram transferidas a frascos de polipropileno e assim armazenadas.

Tabela 7- Identificação das amostras investigadas no presente trabalho.

Tipo de amostra	Identificação
Carbonato de cálcio refinado	C1, C2, C3
Dolomita	D1, D2, D3, D4
Concha de ostras	O1

3.4. PROCEDIMENTOS DE DECOMPOSIÇÃO

3.4.1. Decomposição em sistema aberto para determinação de cálcio e magnésio

Pesou-se cerca de 0,5 g de amostra diretamente em tubos de vidro borosilicato de 100 mL. Posteriormente, as amostras foram transferidas para bloco digestor. Em seguida, acrescentaram-se, lentamente, 5 mL de ácido nítrico. Procedeu-se, então, o aquecimento à temperatura de 80 °C por duas horas. Após arrefecimento, as soluções das amostras foram transferidas para frascos de polipropileno e o volume aferido com água até volume de 50 mL.

3.4.2. Decomposição com ácido nítrico para determinação de chumbo (temperatura ambiente)

As amostras foram pesadas diretamente em frascos de polipropileno de 15 mL, cerca de 0,2 g e em seguida foram adicionados 2 mL de HNO₃ concentrado, após um tempo de 4 h, as amostras foram diluídas até um volume de 10 mL com água. As amostras branco foram preparadas com os mesmos reagentes e foram submetidas ao mesmo tratamento descrito anteriormente. Para os testes de recuperação, foram adicionados 1000 µL de uma solução de referência de chumbo

de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ antes da diluição das amostras, de modo que a concentração da solução final tenham sido acrescida de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.³

3.4.3. Decomposição em sistema pressurizado com aquecimento convencional (sistema de Berghoff)

Transferiu-se cerca de 0,6 g de amostra para o frasco de politetrafluoretileno (PTFE) de 250 mL e adicionaram-se 6 mL de HNO_3 . Após, o frasco foi fechado e o sistema aquecido a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h. Após arrefecimento, as soluções das amostras foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e diluídas até volume de 30 mL, com água. As amostras em branco foram preparadas com os mesmos reagentes e sofreram o mesmo tratamento descrito anteriormente. Para os testes de recuperação, foram adicionados $300 \mu\text{L}$ de uma solução de referência de chumbo de concentração $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ antes da diluição das amostras, de modo que a concentração da solução final tenham sido acrescida de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.³

3.4.4. Decomposição assistida por microondas

Cerca de 0,6 g de amostra foram transferidas para o frasco de decomposição, adicionando-se em seguida 6 mL de HNO_3 concentrado³. Posteriormente, com o sistema fechado, o rotor (com os frascos) foi introduzido no forno de microondas e o programa mostrado na Tabela 8 foi aplicado.

Tabela 8- Programa do forno de microondas utilizado para a decomposição das amostras

Etapa	Tempo (min.)	Potência (W)
1	10	600
2	10	1400
3	20	0

³ AMARASIRIWARDENA, D., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 493-497

Após arrefecimento, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e diluídas a 30 mL com água. Com este procedimento foram atingidas pressões da ordem de 75 atm e temperatura de cerca de 180 °C.⁴ Para os testes de recuperação, foram adicionados 300 µL de uma solução de referência de chumbo de concentração 1000 µg L⁻¹ antes da diluição das amostras, de modo que a concentração da solução final tenham sido acrescida de 10 µg L⁻¹ de Pb.³

3.5. PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DE CHUMBO, CÁLCIO E MAGNÉSIO

3.5.1. Procedimentos para a determinação de chumbo

3.5.1.1. Calibração por adição de analito

O preparo da curva de adição de analito foi realizado nos frascos de polipropileno do amostrador automático do espectrômetro de absorção atômica. Adicionaram-se 50, 100 e 150 µL de solução de referência de Pb de concentração 100 µg L⁻¹ e 100 µL de solução de ácido cítrico 50 g L⁻¹ a 500 µL de amostra, completando o volume com água até 1000 µL. Assim, a concentração final de chumbo adicionado as amostras foi de 5 (3), 10 (4) e 15 (5) µg L⁻¹, exceto para o branco (1) e para a amostra (2) de acordo com a Tabela 9.

³ AMARASIRIWARDENA, D., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 493-497

⁴ ANTON PAAR GmbH, site <http://www.anton-paar.com/>, acessado em 10/02/04

Tabela 9- Volumes de amostra, modificador químico e solução de referência adicionados nos copos do amostrador automático do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite.

Curva de adição	Amostra (μL)	Ác. cítrico (μL) [*]	Solução de referência ($100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb)	Água (μL)	Volume final (μL)
1	-	100	-	900	1000
2	500	100	-	350	1000
3	500	100	50	300	1000
4	500	100	100	250	1000
5	500	100	150	400	1000

^{*} solução preparada conforme o item 3.2.

Os demais modificadores químicos testados, ácidos ascórbico e oxálico, foram adicionados as amostras teste da mesma forma como foi descrito anteriormente para o ácido cítrico (Tabela 10).

As amostras de matriz similar e replicatas tiveram as suas concentrações determinadas a partir da mesma curva de calibração, sendo feita à diluição adequada de acordo com a concentração de cada amostra.

3.5.1.2. Calibração por correção de matriz

Para a calibração por correção de matriz uma amostra de carbonato de cálcio refinado digerida com ácido nítrico concentrado, foi purificada e empregada. Essa amostra foi previamente purificada com uso de extração em fase sólida, empregando uma microcoluna contendo 30 mg de 8-hidroxiquinolina imobilizada em sílica de porosidade controlada, sintetizada em laboratório. A coluna foi condicionada com uma mistura de HNO_3 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ + HCl 2 mol L^{-1} e, logo após, com água. As amostras tiveram o pH ajustado entre 8,0 a 8,5 com NH_4OH e foram passadas através da coluna pré-condicionada para retenção do chumbo. Esta solução, livre de chumbo, serviu como solvente para diluição das soluções de

referência de chumbo, a fim de obter uma curva de calibração com padrões de concentração final de 5, 10 e 15 $\mu\text{g L}^{-1}$.¹⁷

3.5.1.3. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite

Antes da otimização dos melhores parâmetros instrumentais para determinação de chumbo, diferentes massas dos ácidos cítrico, ascórbico e oxálico bem como de paládio foram previamente adicionadas nas amostras de carbonato de cálcio refinado digeridas com ácido nítrico como modificadores químicos da mesma forma como descrito anteriormente para o ácido cítrico. As condições foram determinadas com base nas curvas de pirólise e atomização do chumbo. O programa otimizado para a determinação de chumbo em todas amostras de suplementos de cálcio consta na Tabela 10, sendo utilizado o comprimento de onda de 283,3 nm, uma corrente de 5 mA na fonte de radiação (lâmpada de cátodo oco), largura de banda espectral de 0,5 nm e um volume de injeção da amostra de 20 μL .

Tabela 10- Programa empregado no espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite para a determinação de chumbo nas amostras de suplementos de cálcio

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Tempo (s)	Vazão de argônio
secagem	130	15	40	máxima
pirólise	800	100	30	máxima
AZ	800	0	6	interrompida
atomização	1800	3000	5	interrompida
limpeza	2600	3000	4	máxima

¹⁷ CURTIUS, A. J., *et al.*, *Microchem. J.* 64 (2000) 105-110

3.5.2. Procedimento para a determinação de cálcio

Transferiu-se uma alíquota de 20 μL de solução da amostra decomposta (item 3.4.1) para um frasco de polipropileno de 15 mL, aos quais foram adicionados 100 μL de reagente de Schinkel (item 3.2), e o volume completado com água até 10 mL. Utilizou-se a técnica da calibração convencional, empregando soluções de referência de 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L^{-1} de cálcio. Os parâmetros otimizados para a determinação de cálcio estão na tabela 11.

Tabela 11- Parâmetros instrumentais para a determinação de cálcio empregando F AAS

Parâmetro	
Corrente da lâmpada de cátodo oco	5 mA
Largura da banda espectral	1,2 nm
Comprimento de onda	422,7 nm
Altura do queimador	5 mm
Estequiometria da chama (ar-acetileno)	410 – 65 L h^{-1}
Taxa de nebulização	5 mL min^{-1}

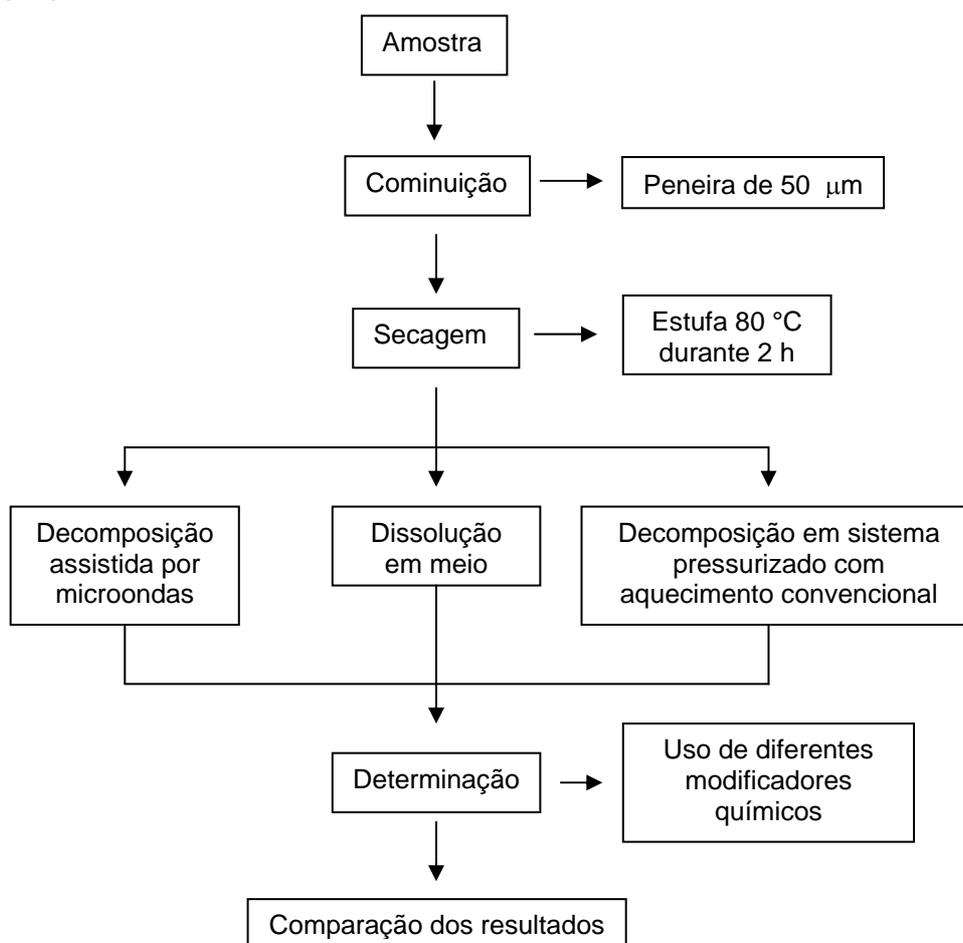
3.5.3. Procedimento para a determinação de magnésio

Transferiu-se uma alíquota de 300 μL de solução da amostra digerida com ácido nítrico (item 3.4.1.) para um frasco de polipropileno de 15 mL, aos quais foram adicionados 0,1 mL de reagente de Schinkel (item 3.2.), completando-se o volume com água até um volume final de 10 mL. Utilizou-se a técnica da calibração convencional, empregando soluções de referência de 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L^{-1} de magnésio. Os parâmetros otimizados para a determinação de magnésio, na Tabela 12.

Tabela 12- Parâmetros instrumentais para a determinação de magnésio empregando FAAS

Parâmetro	
Corrente da lâmpada de cátodo oco	5 mA
Largura da banda espectral	1,2 nm
Comprimento de onda	285,2 nm
Altura do queimador	5 mm
Estequiometria da chama (ar-acetileno)	590 – 75 L h ⁻¹
Taxa de nebulização	5 mL min. ⁻¹

A Fig. 7 mostra um fluxograma geral dos procedimentos empregados para determinação de chumbo em suplementos alimentares a base de cálcio neste trabalho.

**Figura 7-** Fluxograma dos procedimentos empregados para a determinação de chumbo.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 Amostras

Vários autores relataram a ocorrência de interferências, durante a determinação de chumbo em suplementos alimentares à base de cálcio empregando-se GF AAS. Entre os problemas relatados, podem ser citados os seguintes: sinais de fundo elevados, ocorrência de picos duplos, baixa precisão e exatidão. Estes problemas tem persistido mesmo com o emprego de modificadores químicos como $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{PdCl}_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, os quais não conseguiram eliminar completamente estes efeitos.^{6,48,11} Na determinação de chumbo em amostras minerais com elevado teor de cálcio por GF AAS, também tem sido relatada a supressão do sinal analítico, bem como a ocorrência de elevado sinal de fundo.^{52,53}

Sendo assim, no presente trabalho foi investigada a influência de diferentes modificadores orgânicos na determinação de chumbo em amostras de carbonato de cálcio refinado, dolomitas e concha de ostras. As amostras investigadas foram obtidas em farmácias do município de Santa Maria, RS, sendo estas substâncias amplamente usadas como suplementos alimentares à base de cálcio.

Inicialmente, com o objetivo de melhor caracterização da amostra, antes da determinação de chumbo por GF AAS e também de identificar a proporção de alguns concomitantes em relação a este elemento, foram determinados Ca e Mg por

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

¹¹ CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251

⁴⁸ SCALFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

⁵² STAFILOV, T., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 893-906

⁵³ STAFILOV, T., *et al.*, *Talanta* 54 (2001) 139-146

F AAS. As concentrações destes elementos normalmente encontrados em amostras de carbonato de cálcio, concha de ostras e dolomita estão na Tabela 13.

Tabela 13- Concentração de cálcio, magnésio e chumbo em amostras de carbonato de cálcio, concha de ostras e dolomitas⁶

Elemento	Faixa de concentração (mg kg ⁻¹)
Cálcio	160 a 330
Magnésio	3,55 a 90
Chumbo	0,25 a 0,79

As amostras de carbonato de cálcio refinado, dolomitas e concha de ostras foram decompostas empregando ácido nítrico em sistema aberto (item 3.4.1), e as concentrações de cálcio e magnésio foram determinadas por F AAS (item 3.5.2). Os resultados obtidos estão na Tabela 14, e são semelhantes às concentrações relatadas na literatura.⁶

Tabela 14 – Resultados da determinação de cálcio e magnésio por FAAS, nas amostras de carbonato de cálcio refinado (C1-C3), dolomitas (D1-D4) e concha de ostras (O1), empregando calibração convencional usando reagente de Schinkel a 1% como supressor de ionização*.

Amostra	Ca (mg g ⁻¹)	Mg (mg g ⁻¹)
C1	137 ± 4	1,73 ± 0,2
C2	135 ± 11	1,74 ± 0,4
C3	139 ± 6	1,61 ± 0,2
D1	322 ± 2	150 ± 2,0
D2	216 ± 3	150 ± 6,0
D3	204 ± 3	168 ± 8,0
D4	231 ± 7	261 ± 11,0
O1	129 ± 13	2,62 ± 0,2

* Valores representam a média e o desvio padrão referente à decomposição das amostras em triplicata.

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

Considerando a decomposição de 200 mg de amostra, aferição à 10 mL, injeção de 20 µL da solução das amostras no tubo de grafite, pode-se estimar que a quantidade de Ca presente durante a determinação de chumbo esteja entre 26 e 64 µg. Se as amostras investigadas neste trabalho possuírem quantidades de chumbo similares aos relatados na literatura^{6,7,48} (de 0,1 a 3,16 ng) a proporção de cálcio na solução da amostra empregada seria, então, em torno de 10000 a 650000 vezes superior a quantidade de chumbo.

Pode-se considerar, adicionalmente, que se o chumbo estiver presente nas concentrações relatadas nestes trabalhos,^{6,7,48} isto poderia ainda impor uma limitação quanto à possibilidade de diluição da amostra para evitar a interferência causada por cálcio.

Inicialmente, foi tentada a determinação de chumbo por GF AAS, em amostras de carbonato de cálcio refinado, dolomitas e concha de ostras, sem o uso de modificadores químicos, em seguida empregando-se paládio como modificador. Contudo, encontraram-se alguns problemas como elevado sinal de fundo e problemas com a compensação do mesmo. Com base em resultados preliminares, foi realizado um estudo sistemático do uso de paládio, bem como de outros modificadores químicos, para a determinação de chumbo nestas amostras.

4.2. EFEITO DE PALÁDIO, ÁCIDO CÍTRICO, ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO OXÁLICO COMO MODIFICADORES QUÍMICOS

Os elementos do grupo da platina, exceto ósmio, são os modificadores químicos mais utilizados em GF AAS. Recentemente, sua área de aplicação tem sido ampliada, principalmente devido ao seu uso como modificadores permanentes. Embora, usualmente, todos sejam efetivos, seus efeitos podem variar significativamente. De maneira geral, admite-se que o mecanismo de ação seja similar, pois suas propriedades químicas são muito parecidas.^{26,43,63}

Os modificadores químicos orgânicos não são tão amplamente empregados, nem tão eficientes quanto os modificadores químicos do grupo da platina. Porém, estes modificadores vêm sendo empregados para a solução de alguns problemas

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

⁷ BOURGOIN, B. P., *Am. J. Public Health*, 83 (1993) 1155-1160

²⁶ IMAI, S. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 13 (1998) 1199-1202

⁴³ ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

⁶³ VOLYNSKY, A. B., WENNRICH, R., *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1301-1316

analíticos específicos, relacionados, principalmente, a interferências causadas por matrizes inorgânicas com alta concentração de metais alcalinos e alcalino terrosos, como por exemplo água do mar¹¹ e solução de cloreto de cálcio⁶⁴, para determinação de alguns elementos em nível de traços (entre eles o chumbo). Ademais, modificadores químicos orgânicos vêm sendo relativamente pouco empregados e a sua eficiência na análise de amostras reais ainda pouco explorada.⁶⁵ Até o momento poucos trabalhos envolvendo o uso de modificadores orgânicos na determinação de chumbo foram relatados¹¹. Contudo, não foi encontrado nenhum trabalho relacionado à análise de carbonato de cálcio, concha de ostras e dolomitas, fazendo emprego destes modificadores. Desta forma, alguns modificadores orgânicos foram selecionados para a realização de um estudo sistemático com o objetivo de verificar sua eficiência para a solução de problemas relacionados à determinação de chumbo em amostras com alta concentração de cálcio, comparando-os ao uso de paládio como modificador químico nesta mesma condição.

4.2.1 OTIMIZAÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO

O estabelecimento das curvas de pirólise e de atomização é uma das técnicas mais simples e amplamente empregadas pelos usuários de GF AAS para a otimização do programa de temperatura do forno de grafite. Esta técnica consiste em representar, graficamente, a variação da absorbância integrada, com o aumento da temperatura, durante as etapas de pirólise e atomização. Isto permite, verificar a temperatura máxima permitida na etapa de pirólise para qual não ocorrem perdas de analito, bem como a temperatura na qual a nuvem atômica atinge sua densidade máxima, ou seja, onde o sinal analítico é mais intenso, sendo também possível, verificar a absorção de fundo durante estas etapas, e adotar as condições nas quais se atinja um máximo de sensibilidade, com o mínimo de interferência possível.^{67B}

No presente trabalho foram construídas as curvas de pirólise e atomização, de uma amostra de carbonato de cálcio refinado digerida com ácido nítrico (item

¹¹ CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251

⁶⁴ VOLYNSKII, A. B., IGNATOVA, S. N., *J. Anal. Chem.* 11 (2001) 1015-1019

⁶⁷ WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

3.4.2), na ausência de modificador químico (Figs. 8 e 9) e empregando paládio (Figs. 10 e 11), ácido cítrico (Figs. 12, 13, 14 e 15), ácido ascórbico e ácido oxálico (Figs. 18 e 19) como modificadores químicos.

Considerando a concentração de cálcio da amostra empregada neste estudo, 27 μg de Ca foram depositadas no forno de grafite, juntamente com o analito, considerando-se um volume de injeção de amostra de 20 μL .

4.2.1.1. Estudos sem uso de modificador químico

Observando-se as curvas de pirólise e atomização da amostra de carbonato de cálcio sem modificador químico (Fig. 8A), nota-se que durante a etapa de pirólise com atomização fixa em 1800 $^{\circ}\text{C}$, o sinal analítico se mantém constante até cerca de 1000 $^{\circ}\text{C}$, embora em temperaturas acima de 700 $^{\circ}\text{C}$ a absorção de fundo seja significativa. Durante a etapa de atomização, com pirólise fixa em 700 $^{\circ}\text{C}$, o sinal analítico é aparente a partir de temperaturas superiores a 1200 $^{\circ}\text{C}$ (Fig. 8A), no entanto o melhor perfil de sinal (Fig. 9), só é observado na temperatura de atomização de 1800 $^{\circ}\text{C}$, embora haja, ainda, sinal de fundo (Figs. 8B e 9).

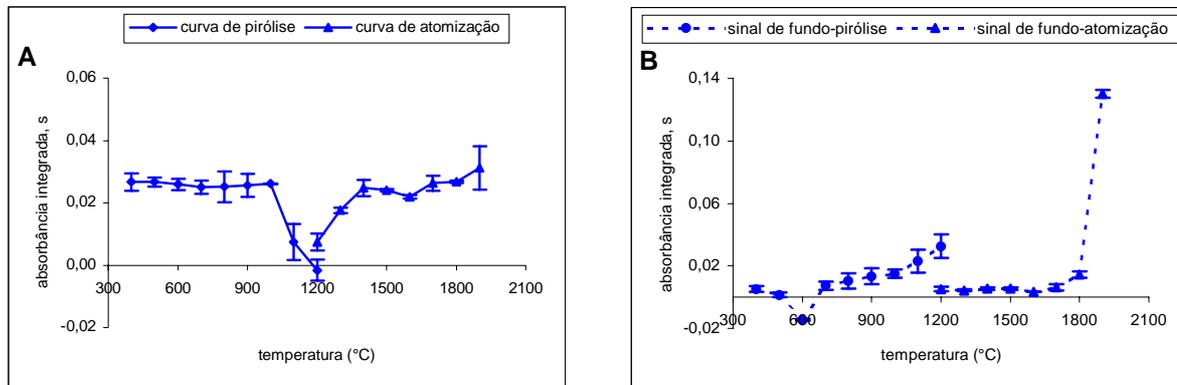


Figura 8- Curvas de pirólise e atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2), alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO₃ a 10% (v/v), sem modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Em temperaturas de atomização superiores a 1900 $^{\circ}\text{C}$, embora o sinal analítico se mantenha constante, o sinal de fundo é bem superior àquele observado em 1800 $^{\circ}\text{C}$. Cabe salientar que a escala do sinal de fundo (eixo das coordenadas) da Fig. 8B é maior que a escala do gráfico da Fig 8A.

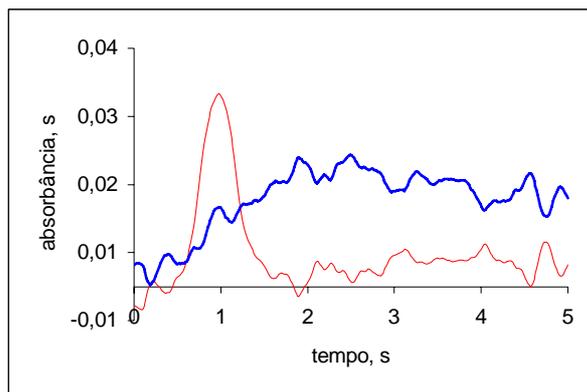


Figura 9- Sinal analítico de chumbo na ausência de modificador químico, em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); temperaturas de atomização e pirólise de 1800 e 700 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução a 10% (v/v) de HNO_3 ; em vermelho: sinal analítico e em azul: sinal de fundo.

4.2.1.2. Efeito de paládio como modificador químico

Quando empregado paládio como modificador químico para a determinação de Pb, nas amostras de carbonato de cálcio, digeridas com HNO_3 (item 3.4.2), observaram-se algumas dificuldades na otimização das melhores temperaturas de pirólise e atomização (Figs. 10A e B). Considerando-se a adição de 3 μg deste modificador, observa-se que a temperatura de pirólise, com atomização fixa em 1800 °C, pode ser estendida em torno de até 1100 °C sem perda significativa de analito (Fig. 10A). Entretanto, em temperaturas superiores a 800 °C, nota-se um significativo aumento no sinal de fundo (Fig. 10B). Cabe salientar que a escala da absorção de fundo da Fig. 10B é dez vezes maior que a escala do gráfico da Fig 10A.

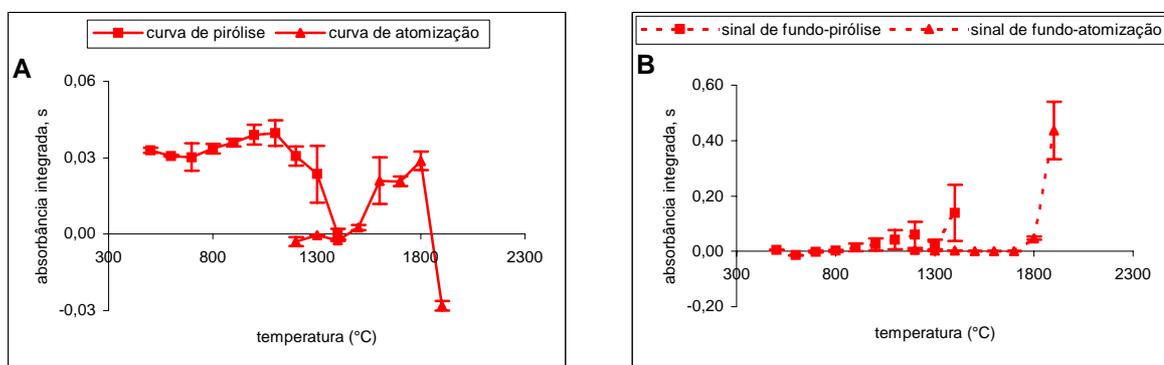


Figura 10- Curvas de pirólise e atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca, em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na presença de 3 μg de paládio como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Durante a etapa de atomização, com temperatura de pirólise fixa em 800 °C, notou-se que somente em temperaturas em torno de 1500 °C (Fig. 10A) o sinal analítico se tornou aparente. Na temperatura de 1900 °C, nota-se problema de compensação do sinal de fundo (Fig. 10A), possivelmente ocasionado pela excessivo sinal de fundo, resultando em absorbância negativa (Figs. 10A e 11B). Por definição, é inexistente absorbância negativa e este tipo de comportamento é uma limitação do corretor de fundo. Isto ocorre, mais freqüentemente, quando é empregado corretor de fundo baseado em lâmpada de deutério, sendo sua ocorrência mais rara, quando empregado corretor de fundo baseado no efeito Zeeman embora isto possa ocorrer no caso de fundo estruturado.^{67B}

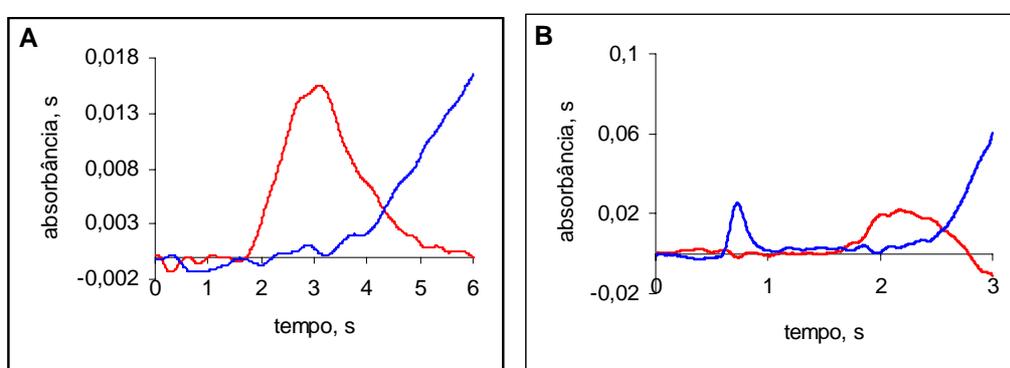


Figura 11- Sinal analítico para chumbo na presença de 3 µg de paládio como modificador químico em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2); temperaturas de atomização de 1800 e 1900 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 µg de Ca em solução a 10% (v/v) de HNO₃; em vermelho: sinais analíticos e em azul: sinais de fundo.

Também foi investigado o efeito da adição de 5 e 7 µg de paládio como modificador químico. Contudo, os problemas com a compensação do sinal de fundo descritos anteriormente, são acentuados com o aumento da massa de modificador adicionada nestas condições.

Segundo relatado em alguns trabalhos, ainda não existe, um consenso a respeito do mecanismo de ação destes modificadores químicos, bem como sobre qual seria o modificador orgânico mais adequado para a determinação de chumbo em uma variedade considerável de matrizes, para que possa ser estabelecido um critério de seleção entre estes, para uma determinada amostra.⁶⁵ No entanto, alguns

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

autores, destacam a eficiência na solução de alguns problemas com o uso de substâncias como os ácidos cítrico, ascórbico e oxálico.^{11,15}

De acordo com o exposto acima, resolveu-se proceder então, um estudo sistemático empregando-se inicialmente, o ácido cítrico como modificador químico, em diferentes concentrações, observando-se os efeitos deste nas etapas de pirólise e atomização, no perfil do sinal analítico, do sinal de fundo, bem como no tempo de integração.

4.2.1.3 Efeito de ácido cítrico como modificador químico

Comparando-se o efeito de diferentes concentrações de ácido cítrico nas curvas de pirólise (Fig. 12A e B) das amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2), observou-se que a temperatura máxima que pode ser empregada nesta etapa é em torno de 1000 °C, usando-se 20 ou 100 µg deste modificador. Entretanto, quando são adicionados 200 µg deste modificador, observou-se perdas de analito já a partir de 500 °C (Fig. 12A). Isto demonstra, a existência de algum efeito do ácido cítrico sobre a volatilidade do chumbo.

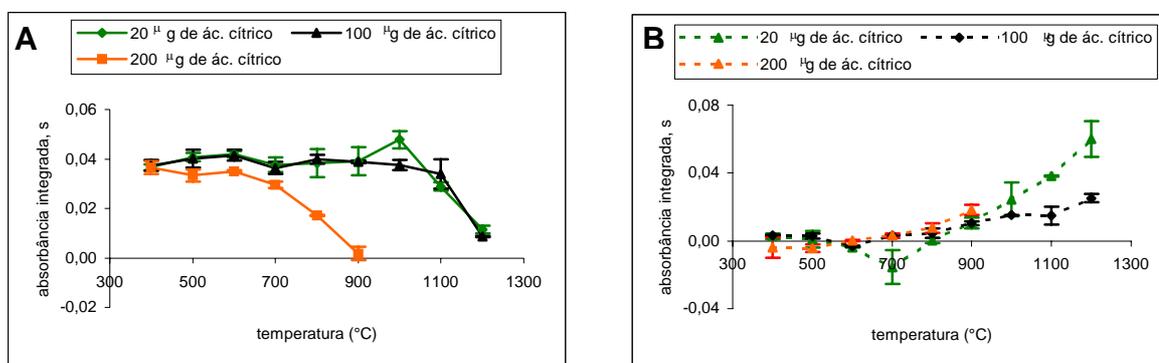


Figura 12- Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2); alíquota contendo 27 µg de Ca, em solução de HNO₃ a 10% (v/v), na presença de 20, 100 e 200 µg de ácido cítrico como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Observa-se, ainda, um menor sinal de fundo (Fig. 12B) na presença de ácido cítrico como modificador, em relação ao obtido com emprego de paládio (Fig. 10B), principalmente em temperaturas superiores a 800 °C.

¹¹ CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251

¹⁵ CAVALHEIRO, E. T. G., *et al.*, *Thermochem. Acta* 362 (2000) 161-168

Considerando-se as curvas de atomização (Fig. 13), com pirólise fixa em 800 °C, observou-se que, com o aumento da concentração de ácido cítrico, a temperatura de surgimento do sinal analítico durante a etapa de atomização, tende a temperaturas mais baixas (Fig. 15A). Segundo alguns autores isto se deve, provavelmente, a uma mudança na atmosfera do atomizador o que levou a diminuição da energia de ativação do chumbo nestas condições, facilitando a volatilização deste elemento em temperaturas mais baixas^{15,30,62,65}. Esta mudança, provavelmente, está ligada à evolução de espécies redutoras, como carbono e hidrogênio, fornecidos durante a decomposição térmica do ácido cítrico. Entretanto, verifica-se que, com o aumento da temperatura de atomização, o sinal de fundo também aumenta (Fig. 13B), principalmente, em temperatura de 1900 °C, para as massas (20 e 200 µg) de ácido cítrico adicionadas. Isto pode ser atribuído a vaporização de espécies moleculares da matriz a partir desta temperatura. Ainda assim, o sinal de fundo é menor em relação ao obtido quando empregado paládio como modificador químico (Fig. 10B).

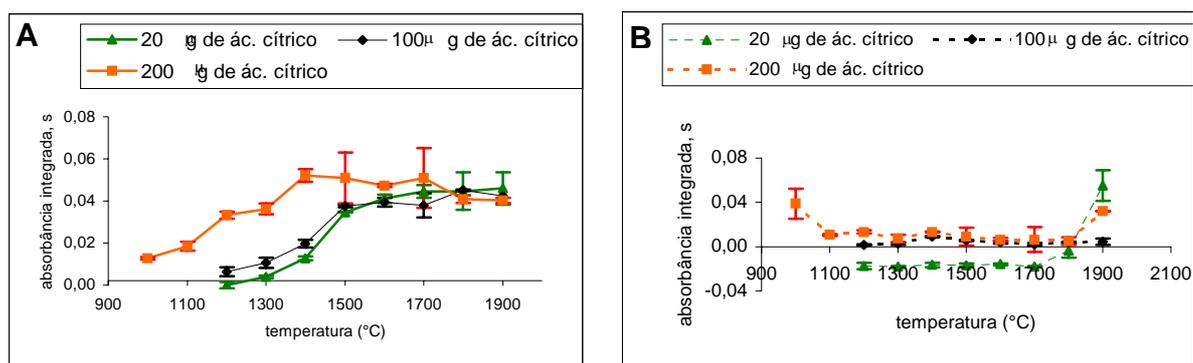


Figura 13- Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2); alíquota contendo 27 µg de Ca, em solução de HNO₃ a 10% (v/v), na presença de 20, 100 e 200 µg de ácido cítrico como modificador químico. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Considerando-se o uso de ácido cítrico como modificador químico notou-se também, uma mudança no perfil do sinal analítico (Fig. 14), bem como a possibilidade do uso de tempo de integração menor em relação ao uso de paládio (Fig. 15), evitando assim, a integração de parte do ruído (Fig. 11A e B). O melhor

¹⁵ CAVALHEIRO, E. T. G., *et al.*, *Thermochem. Acta* 362 (2000) 161-168

³⁰ KÁNTOR, T., *Spectrochim. Acta* 50 B (1995) 1599-1612

⁶² VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

perfil do sinal analítico, foi observado em uma temperatura de pirólise de 800 °C e atomização em 1800 °C, na presença de 100 µg de ácido cítrico (Fig. 13A). Embora, possam ser empregadas, temperaturas mais baixas, pirólise de 400°C e atomização de 1600 °C, empregando 200 µg deste modificador, optou-se pelo uso de menor quantidade de modificador químico, visto que a adição de 100 µg de ácido cítrico são suficientes para reduzir o sinal de fundo (Fig. 14).

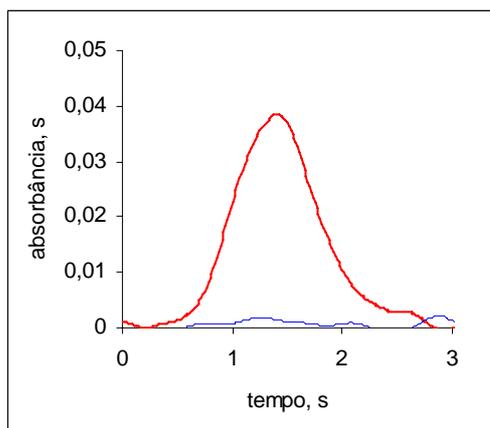


Figura 14 - Sinal analítico de chumbo na presença de 100 µg de ácido cítrico como modificador químico em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2); temperaturas de pirólise e atomização de 800 e 1800 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 µg de Ca, em solução a 10% (v/v) de HNO₃, em vermelho: sinais analíticos e em azul: sinais de fundo.

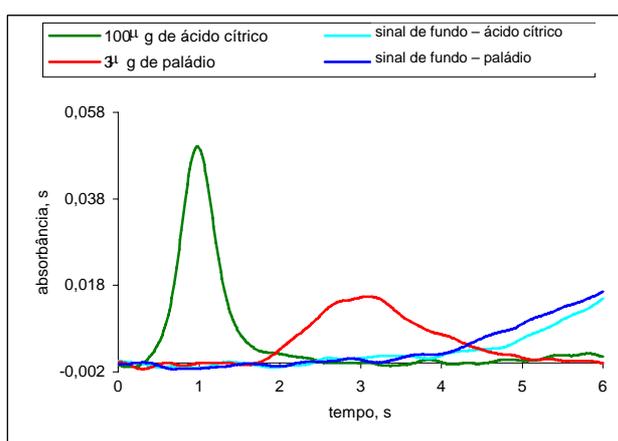


Figura 15- Sinal analítico de chumbo na presença de 100 µg de ácido cítrico e 3 µg de paládio como modificadores químicos em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO₃ (item 3.4.2); temperaturas de pirólise e atomização de 800 e 1800 °C, respectivamente; alíquota contendo 27 µg de Ca em solução a 10% (v/v) de HNO₃.

Observando-se a Fig. 14, nota-se que, com o emprego 100 μg de ácido cítrico, o sinal analítico do chumbo inicia em aproximadamente 0,2 s e pode ser completamente integrado em menos de 3 s, com um baixo sinal de fundo. Na presença de 3 μg de paládio como modificador químico, o sinal analítico inicia em, aproximadamente, 1,8 s e o tempo para integrar completamente o sinal analítico é superior a 5 s (Fig. 15).

4.2.1.4. Comparação dos efeitos de paládio e ácido cítrico

Compararam-se os efeitos do paládio e do ácido cítrico como modificadores químicos, através da sobreposição das curvas de pirólise e atomização, empregando uma amostra de carbonato de cálcio refinado digerida com ácido nítrico (item 3.4.2.).

Na Fig. 16, são apresentadas as curvas de pirólise e de atomização para o chumbo em amostra de carbonato de cálcio refinado, com atomização fixa em 1800 °C. O perfil destas curvas na ausência modificador químico, com 3 μg de paládio e com 100 μg ácido cítrico foram comparadas. Sendo as temperaturas de pirólise máximas para esta etapa foram em torno de 1000 °C, sem modificador e empregando ácido cítrico. Entretanto, esta pode ser expandida para 1100 °C quando empregados 3 μg de Pd como modificador (Fig. 16A). Este comportamento com o uso deste modificador já era esperado, conforme alguns trabalhos prévios na literatura,^{19,40,69} visto que este apresenta alta eficiência na estabilização térmica deste elemento, sendo amplamente empregado para a sua determinação em diferentes matrizes.^{11,17}

¹¹ CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251

¹⁷ CURTIUS, A. J., *et al.*, *Microchem. J.* 64 (2000) 105-110

¹⁹ DABEKA, R. W., *Anal. Chem.* 64 (1992) 2419-2424

⁴⁰ MING, N. Z., PING, Y. X., *Spectrochim. Acta* 48 B (1993) 1315-1323

⁶⁹ WENDL, W., MUELLER-VOGT, G., *J. Anal. At. Spect.* 3 (1998) 63-66

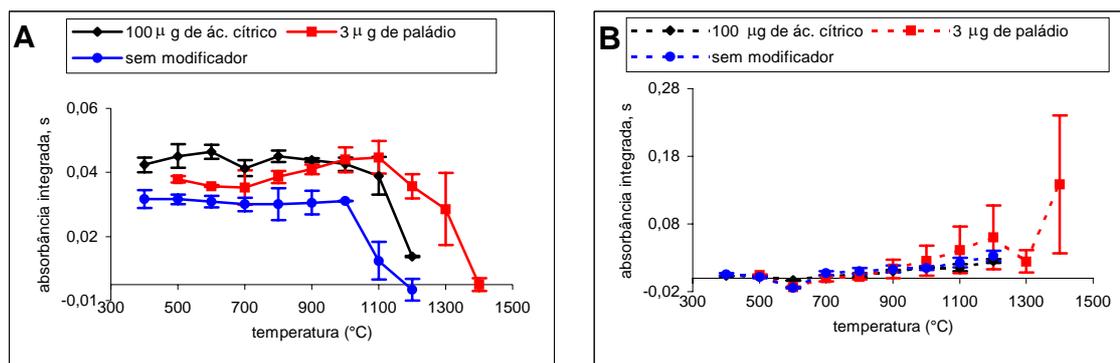


Figura 16- Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo $27 \mu\text{g}$ de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na ausência de modificador químico e na presença de $3 \mu\text{g}$ de paládio e $100 \mu\text{g}$ de ácido cítrico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Entretanto, o aumento da temperatura de pirólise (Fig. 16A) contribuiu para o aumento do sinal de fundo para todas as situações investigadas, com ou sem uso de modificador químico, em temperaturas superiores a $1000 \text{ }^\circ\text{C}$, principalmente quando é empregado paládio como modificador químico. Cabe salientar, que a escala da absorção de fundo das Figuras 16B e 17B é cerca seis vezes maior que a escala dos gráficos das Figuras 16A e 17A.

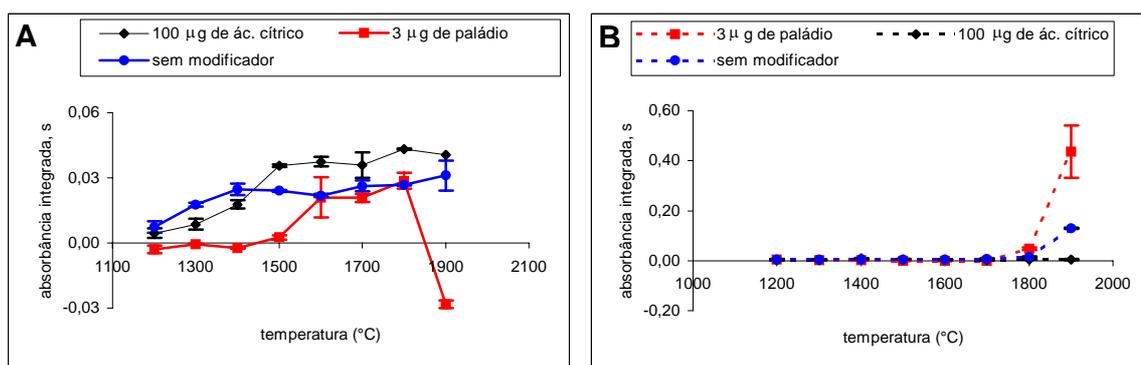


Figura 17- Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo $27 \mu\text{g}$ de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na ausência de modificador químico e na presença de $3 \mu\text{g}$ de paládio e $100 \mu\text{g}$ de ácido cítrico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Observando-se as curvas de atomização (Fig. 17A), sendo a pirólise fixa em 800 °C, nota-se que houve um aumento na área do sinal analítico, sendo que a temperatura em que o sinal analítico tornou-se aparente situa-se em 1200 °C sem modificador ou, mesmo, empregando-se 100 µg de ácido cítrico. Quando empregados 3 µg de paládio como modificador este efeito ocorre somente em temperaturas da ordem de 1500 °C, conforme já relatado na literatura.^{19,69,70} Assim, é necessária uma temperatura relativamente mais alta para que se possa atomizar satisfatoriamente o chumbo.^{11,70}

Em temperaturas de atomização superiores a 1800 °C, observou-se um decréscimo no sinal analítico de chumbo, quando empregado paládio como modificador. Este fato, provavelmente, está relacionado a problemas de compensação de sinal defundo (Fig. 11B). Observou-se, também, que o sinal de fundo durante a etapa de atomização semelhantemente ao ocorrido durante a pirólise, é maior a temperaturas de atomização superiores a 1800 °C, particularmente com o uso do paládio.¹⁰ Pode se observar, a partir dos resultados encontrados que com o uso de 100 µg ácido cítrico como modificador químico, a absorção de fundo diminuiu bastante em relação ao emprego de paládio como modificador químico ou, mesmo, na ausência de modificador químico.

Alguns autores relatam bons resultados com o uso de misturas envolvendo modificadores do grupo da platina com modificadores orgânicos.^{33,61} No entanto, no presente trabalho resolveu-se dar ênfase ao uso dos modificadores orgânicos, a fim de investigar os efeitos dos modificadores orgânicos comparando-os ao uso de paládio nas mesmas condições.

4.2.1.5. Comparação dos efeitos dos ácidos cítrico, ascórbico e oxálico

Comparando-se o emprego de ácido ascórbico, cítrico e oxálico (Fig. 18A), com a adição de 100 µg destes modificadores, notou-se que a estabilidade térmica

¹⁰CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 619-631

¹¹CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251

¹⁹DABEKA, R. W., *Anal. Chem.* 64 (1992) 2419-2424

³³KILIÇ, Z. et al., *Food chem.* 76 (2002) 107-116

⁶¹VOLYNSKY, A. B., *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 2361-2369

⁶⁹WENDL, W., MUELLER-VOGT, G., *J. Anal. At. Spect.* 3 (1998) 63-66

⁷⁰YAN, X. P., NI, Z. M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 1052-1060

do chumbo, não variou significativamente, em torno de 1000 °C (Fig. 18A). Sob estas condições, o sinal de fundo é relativamente mais intenso (Fig. 18B) quando é empregado ácido oxálico como modificador, em temperaturas superiores a 600 °C, se comparado ao uso dos ácidos ascórbico e cítrico.

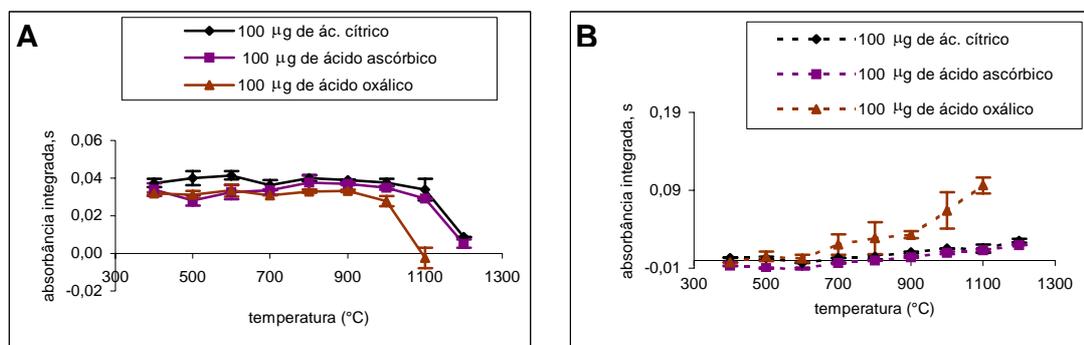


Figura 18- Curvas de pirólise para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v), na 100 μg dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

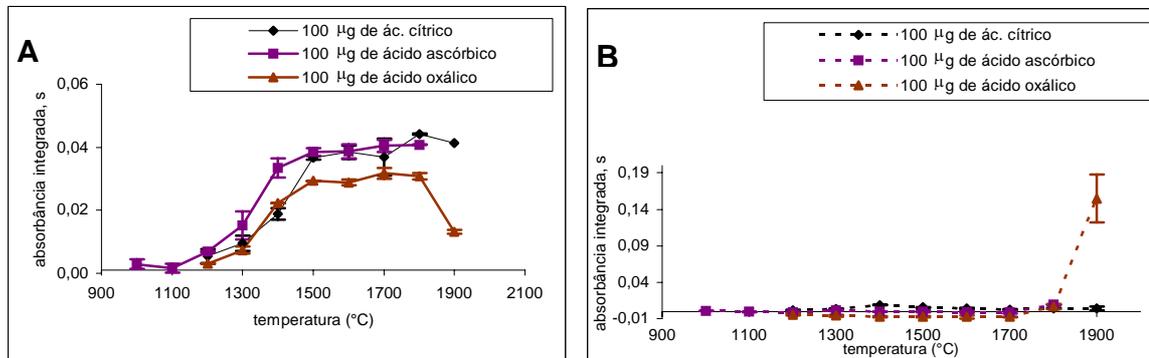


Figura 19- Curvas de atomização para chumbo em amostra de carbonato de cálcio digerida com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em solução de HNO_3 a 10% (v/v) na presença de 100 μg dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico como modificadores químicos. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão. (A) sinal analítico (B) sinal de fundo.

Observando-se as curvas de atomização, dos diferentes modificadores orgânicos (Fig. 19A), nota-se que a temperatura de aparecimento do sinal analítico foi mais baixa em relação ao uso de paládio. Isto indica uma eficiência, relativamente, maior na volatilização do chumbo na presença destas substâncias.³⁰

³⁰ KÁNTOR, T., *Spectrochim. Acta* 50 B (1995) 1599-1612

Uma diminuição do sinal de fundo com o emprego dos ácidos cítrico e ascórbico também foi observado. Este fato está de acordo com outros resultados descritos na literatura.^{62,65} Entretanto, foi constatado que com o uso de ácido oxálico, em temperatura de atomização de 1900 °C, ocorreu uma redução do sinal analítico do chumbo.

4.2.1.6 Deslocamento do sinal analítico em relação à massa de modificadores orgânicos adicionada

Para todos os modificadores empregados notou-se que houve um deslocamento do sinal analítico para tempos menores, quando comparado a ausência de modificador químico ou em relação à adição de paládio, o que pode indicar uma maior eficiência de atomização do chumbo quando empregados ácidos orgânicos como modificadores químicos.⁶²

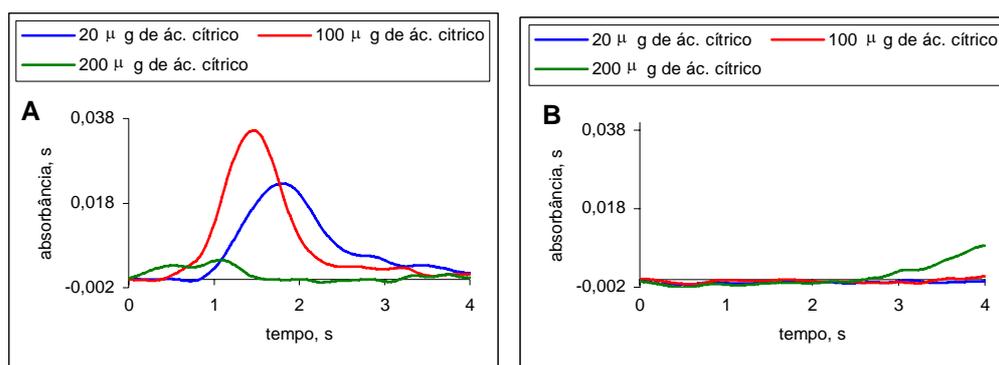


Figura 20- Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 µg de ácido cítrico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 µg de Ca em HNO₃ 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão.

O fenômeno de deslocamento do sinal analítico foi mais intenso para o ácido cítrico (Fig. 20A), para o qual percebeu-se inclusive uma redução no sinal analítico quando adicionados 200 µg deste modificador, o que pode significar perda de analito na etapa de pirólise (Fig. 13A).

Com o uso de ácido ascórbico notou-se um deslocamento do sinal analítico contudo, não observou-se diminuição de sinal analítico quando empregados 200 µg deste modificador químico (Fig. 21A). Assim pode-se concluir que não há perdas de

⁶² VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

analito na etapa de pirólise mediante o uso deste modificador químico, em temperaturas em torno de 800 °C.

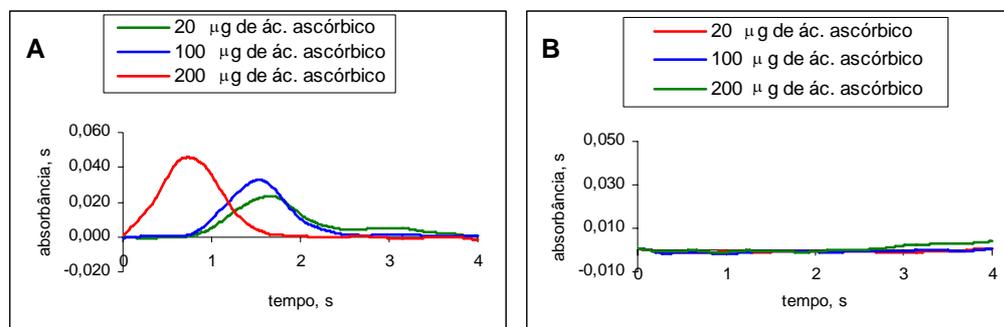


Figura 21– Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 µg de ácido ascórbico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 µg de Ca em HNO₃ 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão.

Quando empregado ácido oxálico como modificador químico, observou-se um aumento na área do sinal analítico. Porém com um deslocamento relativamente pequeno (Fig. 22A). Isto que demonstra que, em relação ao uso dos ácidos cítrico e ascórbico este possui uma menor efetividade na volatilização do chumbo. Contudo, nas condições empregadas, a absorção de fundo é desprezível, podendo este modificador ser empregado para a determinação de chumbo nestas amostras sem interferências significativas.

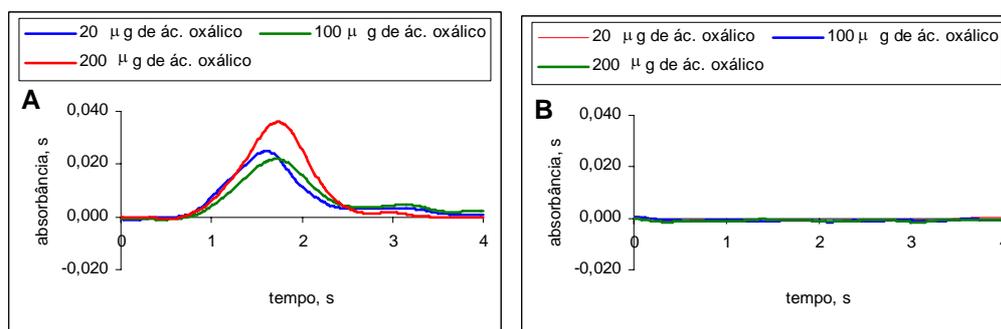


Figura 22 – Variação do perfil do sinal analítico do chumbo quando adicionados 20, 100 e 200 µg de ácido oxálico como modificador químico em amostras de carbonato de cálcio digeridas com ácido nítrico (item 3.4.2); alíquota contendo 27 µg de Ca em HNO₃ 10% (v/v). (A) sinal analítico (B) sinal de fundo. Cada ponto representa a média de três medidas e correspondente desvio padrão.

Os sinais analíticos obtidos nas situações descritas apresentaram-se com perfil gaussiano (Fig. 14) e puderam ser integrados em menores intervalos de tempo (Fig. 15), quando comparados ao uso de paládio ou mesmo na ausência de modificador químico. Além disso, para a redução do tempo de integração quando adicionado paládio seria necessário o aumento nas temperaturas de pirólise e/ou atomização, o que neste caso poderia levar a um aumento no sinal de fundo, cuja correção é limitada pelo corretor baseado em lâmpada de deutério.

As amostras de dolomita e concha de ostras, também apresentaram comportamento similar em relação aos modificadores químicos empregados nesta investigação. O perfil dos sinais analíticos do chumbo (Fig. 23A e B), bem como os sinais de fundo foram similares, o que revela que as condições otimizadas, aliadas ao uso de ácido cítrico como modificador químico, são semelhantes, apesar da variação dos componentes das matrizes das amostras.

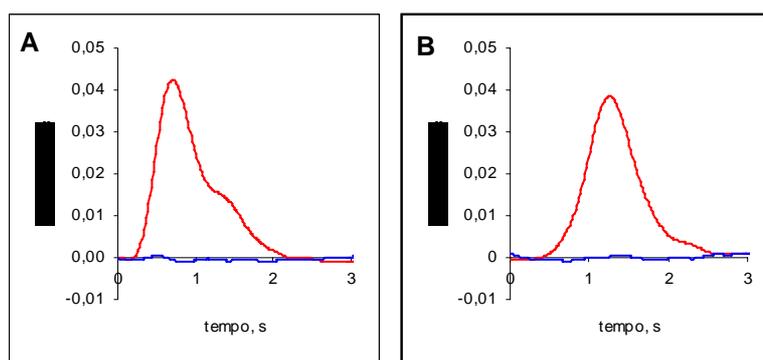


Figura 23- Perfil do sinal analítico de chumbo característico para amostras de dolomitas (A) e concha de ostras (B), digeridas com ácido nítrico (item 3.4.4), quando adicionados 100 μg de ácido cítrico como modificador químico.

4.3. DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM AMOSTRAS DE CARBONATO DE CÁLCIO REFINADO, DOLOMITAS E CONCHA DE OSTRAS

4.3.1 Calibração

No presente trabalho, empregaram-se as técnicas da adição de analito e correção de matriz para calibração. A adição de analito consiste em fazer um determinado número de replicatas da amostra, adicionando a ela quantidades crescentes de analito (alíquotas de uma solução de referência adequada) e, por fim, fazendo sua diluição até o mesmo volume. Uma das alíquotas é apenas diluída com água, não sendo a ela adicionada qualquer quantidade de analito. A série de

soluções obtida é empregada para fazer a curva de adição. O cálculo da concentração de analito é realizado pela extrapolação da curva analítica sobre o eixo y (absorbância integrada) para interceptar um valor negativo de x (concentração). Para a técnica de adição de analito é necessário que se trabalhe na faixa linear da curva analítica, considerando as diluições adequadas para atingi-la.⁶⁷ Assim, algumas interferências durante a volatilização, distribuição espacial, bem como interferências na fase vapor, influência na inclinação da curva analítica, independente da concentração, podem ser quantitativamente eliminadas pela técnica de adição de analito.^{67C}

A técnica de correção de matriz consiste em adicionar às soluções de referência usadas para a construção da curva analítica uma quantidade semelhante de componentes da matriz, da amostra investigada, com a finalidade de tornar o comportamento do analito similar em ambas às soluções. Pode-se ainda, empregando métodos cromatográficos, separar o analito da matriz da amostra e usar esta matriz para a construção da curva de calibração, através da adição das quantidades apropriadas de solução de referência do analito nesta mesma.^{67D}

A quantificação de chumbo nas amostras de carbonato de cálcio foi realizada empregando-se ácido cítrico como modificador químico. Tanto para a técnica da adição padrão como o de correção de matriz empregadas para a quantificação de chumbo nas amostras adicionaram-se, 50, 100 e 150 μL de solução de referência de chumbo de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$, 500 μL de amostra digerida com ácido nítrico (adição de analito), ou da sua matriz purificada (correção de matriz) e 100 μL de ácido cítrico diluindo-se com água até o volume de 1000 μL . Assim as concentrações finais de chumbo adicionadas as amostras ou na sua matriz foram de 5, 10 e 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, exceto para uma amostra (no caso da adição de analito), onde não foi adicionado analito, e para amostra em branco (em ambas as técnicas). As amostras com matriz similar, carbonato de cálcio refinado, dolomita, concha de ostras tiveram as concentrações estimadas através da mesma curva analítica.

⁶⁷ WELZ, B., SPERLING, M., Atomic Absorption Spectrometry, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

4.3.2. Resultados

Não foram encontrados materiais de referência certificados adequados para determinação de chumbo em suplementos de cálcio, ou seja, com composição e certificação para este elemento nas concentrações comumente encontrada nestas amostras.

Os resultados obtidos (Tabela 15) para as amostras de carbonato de cálcio e dolomita não apresentaram diferença significativa para os três procedimentos de decomposição empregados (teste t, $p < 0,05$) bem como entre as técnicas de calibração empregadas. Entretanto, para a amostra de concha de ostras foi constatada uma diferença significativa, entre o resultado da determinação de chumbo em amostra decomposta com ácido nítrico em temperatura ambiente, com os resultados desta decomposta com ácido nítrico em forno de microondas e sistema de Berghoff. Contudo não há diferença significativa entre os resultados destes últimos (Teste T, $p < 0,05$).

Tabela 15– Resultados da determinação de chumbo empregando diferentes técnicas de decomposição e de amostras por GF AAS, empregando calibração por adição de analito bem como de correção de matriz e 100 µg de ácido cítrico como modificador químico*

Amostra	Decomposição com ácido nítrico (temperatura ambiente)	Decomposição assistida por microondas	Decomposição em sistema de Berghoff
C-1	0,63 ± 0,03	0,60 ± 0,03	0,62 ± 0,01
C-2	0,60 ± 0,01	0,60 ± 0,03	0,60 ± 0,01
C-3	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,20 ± 0,01
C-4	0,52 ± 0,02	0,53 ± 0,04	0,53 ± 0,01
D-1	0,59 ± 0,04	0,60 ± 0,01	0,60 ± 0,01
D-2	0,59 ± 0,04	0,58 ± 0,02	0,59 ± 0,01
D-3	0,81 ± 0,02	0,80 ± 0,01	0,82 ± 0,02
D-4	0,38 ± 0,06	0,39 ± 0,01	0,40 ± 0,01
O-1	0,45 ± 0,03	1,21 ± 0,49	1,18 ± 0,12

* Valores representam a média e o desvio padrão, referentes aos valores obtidos por calibração com adição de analito e correção de matriz, sendo a decomposição das amostras em triplicata.

Desta forma, pode ser adotada a digestão com ácido nítrico em temperatura ambiente (item 3.4.2), para as amostras de carbonato de cálcio refinado e dolomitas. Entretanto, devido a diferenças significativas (teste t, $p < 0,05$) entre os resultados na decomposição da amostra de concha de ostras, para a determinação de chumbo nesta amostra, foi empregada a digestão com ácido nítrico em forno de microondas (item 3.4.4).

Nas amostras investigadas no presente trabalho, as concentrações de chumbo são similares às relatadas na literatura por alguns autores, quando analisando amostras de carbonato de cálcio refinado, dolomita e concha de ostras (Tabela 4).^{6,7} Levando-se em conta a proposição 65 estabelecida pela farmacopéia norte americana¹³, onde a ingestão máxima de chumbo permitida através de suplementos alimentares a base de cálcio, considerando uma dosagem diária recomendada (800 mg de Ca elementar) é de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo as amostras investigadas no presente trabalho consideradas aptas para o consumo, segundo o critério mencionado.

4.3.3. Parâmetros de mérito

O coeficiente de correlação das curvas de calibração foi sempre em torno de 0,999 e a massa característica média de 16 pg e o desvio padrão relativo médio inferior a 5% ($n=7$). Os testes de recuperação nas amostras variaram de 95 a 105%. O limite de detecção estimado, considerando a decomposição de 200 mg de amostra, foi de $0,02 \mu\text{g g}^{-1}$ ou 5 ng (3s, 10 replicatas de amostra em branco), considerando um volume de injeção de 20 μL , empregando 100 μg de ácido cítrico como modificador e tempo de integração de 3 s. Quando empregados 3 μg de paládio como modificador químico e um tempo de integração de 6 s, o limite de detecção estimado foi de $0,11 \mu\text{g g}^{-1}$ ou 110 ng (3s, 10 replicatas de amostra em branco), considerando-se um volume de injeção de 20 μL ou seja aumentou em um fator de 5 vezes.

Comparando-se os limites de detecção atingidos no presente trabalho, com aqueles relatados por Borgoin *et al.*⁶ observa-se que quando empregado ácido cítrico como modificador químico o limite de detecção é melhor do que quando

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

⁷ BOURGOIN, B. P., *Am. J. Public Health*, 83 (1993) 1155-1160

¹³ California Attorney General's Office. Superior Code Settlement nr. 984503. San Francisco, CA, 15 May, 1997

empregado paládio. O limite de detecção atingido adicionando paládio como modificador químico está de acordo com aqueles encontrados na literatura na literatura.^{66,48} A melhora do limite de detecção quando empregado ácido cítrico em relação ao uso de paládio, pode estar relacionada também ao tempo de integração, pois quanto menor este ruído é integrado.¹²

Tabela 16– Comparação entre os limites de detecção de Pb em suplementos de cálcio do presente trabalho com os apresentados por Bourgoin *et al.*⁶ para diferentes técnicas

Técnica	LD $\mu\text{g g}^{-1}$
ICP-MS ⁶	0,01
ASV ⁶	0,12
GF AAS ⁶	0,12
F AAS ⁶	0,5
GF AAS (100 μg de ác. cítrico)	0,02
GF AAS (3 μg de paládio)	0,11

4.3.4. Comparação da sensibilidade do chumbo em amostra de carbonato de cálcio na ausência de modificador químico e empregando paládio, ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido oxálico como modificadores químicos

Mesmo apresentando diferentes perfis, nas suas melhores temperaturas de pirólise e atomização otimizadas, os sinais analíticos deveriam apresentar aproximadamente a mesma área, ou seja, não deveria haver aumento na sensibilidade, tendo massa característica como parâmetro, com o uso de diferentes modificadores⁶⁵ (como no caso do chumbo), nas condições STPF.⁵¹

No presente trabalho, para verificar o efeito dos modificadores químicos sobre a sensibilidade, esta foi avaliada com base nos valores de massa característica.

⁶ BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22

¹² CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Analyst* 122 (1997) 1335-1341

⁴⁸ SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313

⁵¹ SLAVIN, W., *et al.*, *At. Spectrosc.* 2 (1981) 137-145

⁶⁵ VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377

⁶⁶ WALSH, A., *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108-117

Para isso foi empregada uma amostra de carbonato de cálcio digerida com ácido nítrico (itens 3.4.2 e 3.4.4 concha de ostras), alíquota contendo 27 μg de cálcio, em HNO_3 a 10%, na ausência de modificador químico, adicionando 20, 100 e 200 μg dos ácidos cítrico, ascórbico e oxálico, bem como 3 e 5 μg paládio. Durante este experimento, também foram usadas amostras em branco para verificar a existência de algum problema de contaminação dos modificadores empregados, bem como da variação introduzida pelos mesmos.

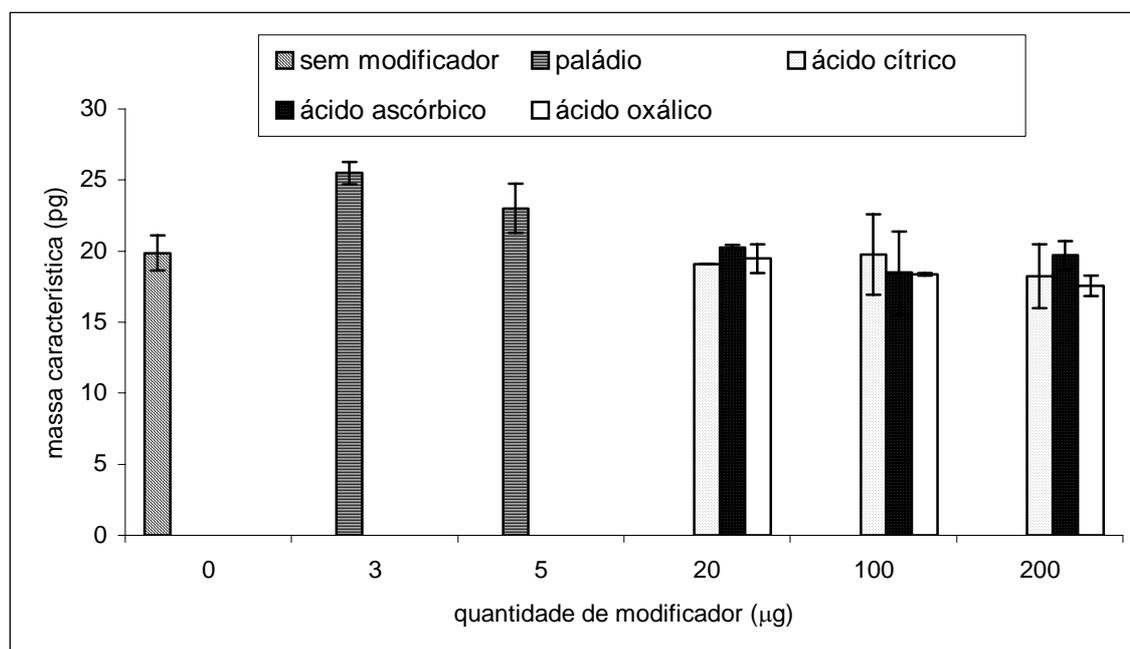


Figura 24- Massas características do chumbo em amostra de carbonato de cálcio refinado digerido com HNO_3 (item 3.4.2); alíquota contendo 27 μg de Ca em HNO_3 a 10%.

Observa-se na Figura 24, que quando empregando-se modificadores químicos orgânicos em suas melhores condições de pirólise, atomização e tempo de integração, não foram constatadas diferenças significativas entre suas massas características quando empregadas diferentes concentrações de ácidos orgânicos. Entretanto, foi constatada uma diferença significativa nas massas características do chumbo na presença deste grupo de modificadores e quando adicionados 3 e 5 μg de paládio, sendo estas em torno de 15% mais altas. A explicação para este fenômeno pode estar no fato do paládio aumentar a temperatura do gás inerte no interior do tubo; segundo relatado na literatura, isto pode acontecer principalmente quando empregadas quantidades superiores a 1 μg de Pd, tendo como resultado

uma reação exotérmica do paládio com o grafite do tubo. Este fenômeno pode levar a diminuição do tempo de residência do chumbo no tubo de grafite, e conseqüentemente da área do sinal analítico, devido ao aumento na velocidade de difusão do vapor atômico.³²

³² KATSKOV, D. A., SADAGOV, Y. M., *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 1397-1405

5. CONCLUSÃO

O uso de modificadores químicos baseados em compostos orgânicos pode ser considerado uma alternativa para a determinação de chumbo em amostras de carbonato de cálcio. Comparando-se o emprego destes compostos ao de modificadores convencionais, pode-se dizer que eles agregam algumas vantagens como baixo custo, baixa toxicidade e menores sinais de fundo.

Desta forma pode ser proposta a utilização destes compostos para a determinação de chumbo em amostras de carbonato de cálcio, dolomita e concha de ostras.

Pode-se afirmar, ainda, que foi possível melhorar o limite de detecção para determinação de chumbo em suplementos de cálcio com o uso de modificadores orgânicos. Isto pode ser atribuído à eficiência destes modificadores na volatilização do chumbo, o que possibilitou o uso de tempos de integração relativamente menores quando comparados ao uso de paládio como modificador químico, minimizando, assim os efeitos causados pela matriz das amostras investigadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKMAN, S., *et al.*, *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 2361-2369
2. ALKEMADE, C. Th. J., MILATZ, J. M. W., *J. Opt. Soc. Am.*, 45 (1955) 583-584
3. AMARASIRIWARDENA, D., *et al.*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 493-497
4. ANTON PAAR GmbH, site <http://www.anton-paar.com/>, acessado em 10/02/04
5. BELARRA M. A., *Trends in Anal Chem* 21 (2002) 828-839
6. BOURGOIN, B. P., *et al.*, *Analyst*, 117 (1992) 19-22
7. BOURGOIN, B. P., *Am. J. Public Health*, 83 (1993) 1155-1160
8. BYRNE, J. P., *et al.*, *J. Anal. At. Spect.*, 7 (1992) 371-381
9. BULSKA E., ORTNER H. M., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 491-499
10. CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 619-631
11. CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Spectrochim. Acta* 51 B (1996) 1245-1251
12. CABON, J. Y., BIHAN, A. L., *Analyst* 122 (1997) 1335-1341
13. California Attorney General's Office. Superior Code Settlement nr. 984503. San Francisco, CA, 15 May, 1997
14. CAPAR, S. G., GOULD, J. H., *J. Assoc. Off Anal. Chem.* 62 (1979) 1054-1061
15. CAVALHEIRO, E. T. G., *et al.*, *Thermochim. Acta* 362 (2000) 161-168
16. CROSBY, W. H., *J. Am. Med. Assoc.* 237 (1977) 2627-2629
17. CURTIUS, A. J., *et al.*, *Microchem. J.* 64 (2000) 105-110
18. DABEKA, R. W., MCKENZIE, A. D., *J. Assoc. Off Anal. Chem.* 70 (1987) 754-757

19. DABEKA, R. W., *Anal. Chem.* 64 (1992) 2419-2424
20. EDIGER, R. D., *At. Absorpt. Newslett.* 14 (1975) 127-130
21. ESCHENBROICH, C., SALZER, A., *Organometall. Chem.*, (1998) 366-438
22. GILCHRIST, G. F. R. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 5 (1990) 175-181
23. HAGEMAN, L. R., *et al.*, *Anal. Chem.* 51 (1979) 1406-1412
24. HÉROLD, C., *et al.*, *Solid State Sciences* 127 (6) (2004) 125–138
25. IMAI, S., HAYASHI, Y., *Anal. Chem.* 63 (1991) 772-775
26. IMAI, S. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 13 (1998) 1199-1202
27. INSTITUTE FOR NATIONAL MEASUREMENT STANDARDS. [http:// inms-ienm.nrc-cnrc.gc.ca/calserv/chemical.metrology-e.html](http://inms-ienm.nrc-cnrc.gc.ca/calserv/chemical.metrology-e.html), acessado em 15/02/04
28. IWAMOTO, E. *et al.*, *J. Anal. At. Spect.* 4 (1989) 433-437
29. JIANG, S. J., *Anal. Chim. Acta* 429 (2001) 247-255
30. KÁNTOR, T., *Spectrochim. Acta* 50 B (1995) 1599-1612
31. KÁNTOR, T., BEZUR, L., *J. Anal. At. Spect.* 1 (1986) 9-17
32. KATSKOV, D. A., SADAGOV, Y. M., *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 1397-1405
33. KILIÇ, Z. *et al.*, *Food chem.* 76 (2002) 107-116
34. KRASOWSKI, J. A., COPELAND, T. R., *Anal. Chem.* 51 (1979) 1843-1849
35. *Lead in bonemeal*. Washington, DC: *US Food and Drug Administration*, Office of Public Affairs; July 30, 1981
36. L'VOV, B. V., *Spectrochim Acta* 17 (1961) 761-770
37. MASSMAN, H., *Spectrochim. Acta* 23 B (1968) 215-226
38. MATSUZAKI, K., *et al.*, *Anal. Sci.* 15 (2) (1999) 141-144
39. MICHIGAN TECHNOLOGICAL UNIVERSITY, <http://www.phy.mtu.edu/>, acessado em 10/02/2004
40. MING, N. Z., PING, Y. X., *Spectrochim. Acta* 48 B (1993) 1315-1323
41. *National Research Council. Measuring Lead Exposure in Infants, Children and Other Sensitive Populations*. Washington, DC: *National Academy of Sciences*, 1993

42. OBERLIN, A. *et al.*, *Carbon* 18 (1980) 347-353
43. ORTNER, H. M. *et al.*, *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1835-1853
44. OYA, A., OTANI, S., *Carbon* 17 (1979) 131-137
45. REGAN, J.G.T., WARREN J., *Analyst* 101 (1976) 220-221
46. ROBERTS, H. J., *Soc. Med. J.* 76 (1983) 556-559
47. ROSS, E. A., *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* 284 (2000) 1425-1429
48. SCELFO, G. M., FLEGAL, A. R., *Environ. Health Perspec.* 4 (2000) 309-313
49. SIITONEM, P. H., THOMPSON, H. C., *JADAC Int.* 77 (1994) 1299-1304
50. SLAVEYKOVA, V. I., TSALEV, D. L., *Anal. Lett.* 23 (1990) 1921-1937
51. SLAVIN, W., *et al.*, *At. Spectrosc.* 2 (1981) 137-145
52. STAFILOV, T., *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 893-906
53. STAFILOV, T., *et al.*, *Talanta* 54 (2001) 139-146
54. STURGEON, R. E., *Spectrochim. Acta* 52 B (1997) 1451-1457
55. TSALEV, D. L., *et al.*, *Spectrochim. Acta Rev* 13 (1990) 225-274
56. TÜRKER, A. R., *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 329-338
57. TÜRKER, A. R., *et. al*, *Spectrochim. Acta* 55 B (2000) 1635-1641
58. *US Food and Drug Administration: Advice on limiting intake of bonemeal. Food and Drug Administration Drug Bull*, April 1982: 5-6
59. UNIVERSITY COLLEGE LONDON, <http://www.cmp.ucl.ac.uk/~nts.proj.html>
60. VOLYNSKII A. B., *Spectrochim. Acta* 53 B (1998) 139-149
61. VOLYNSKY, A. B., *Spectrochim. Acta* 56 B (2001) 2361-2369
62. VOLLINSKII, A. B., *J. Anal. Chem.* 58 (2003) 905-921
63. VOLYNSKY, A. B., WENNRICH, R., *Spectrochim. Acta* 57 B (2002) 1301-1316
64. VOLYNSKII, A. B., IGNATOVA, S. N., *J. Anal. Chem.* 11 (2001) 1015-1019
65. VOLYNSKY, A. B., *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 367-377
66. WALSH, A., *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108-117
67. WELZ, B., SPERLING, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3a. ed., Weinheim, Alemanha, 1999 p. (A)51,(B)119, (C)138, (D)189

68. WELZ, B., SCHLEMMER, G., *Spectrochim. Acta* 11 B (1986) 1157-1165
69. WENDL, W., MUELLER-VOGT, G., *J. Anal. At. Spect.* 3 (1998) 63-66
70. YAN, X. P., NI, Z. M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 1052-1060