

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

LEANDRO KOLLING

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO  
EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS E FÓRMULAS INFANTIS UTILIZANDO  
GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE  
ABSORÇÃO ATÔMICA**

Porto Alegre, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

LEANDRO KOLLING

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO  
EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS E FÓRMULAS INFANTIS UTILIZANDO  
GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE  
ABSORÇÃO ATÔMICA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à  
atividade de ensino “Trabalho de Conclusão  
de Curso - Química” do curso de Química,  
como requisito parcial para a obtenção do  
grau de Bacharel em Química

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Messias da Silva  
Orientadora

Porto Alegre, 2015

Dedico este trabalho a minha família.  
Muito obrigado!

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Elisiane e Valdir Kolling, e as minhas irmãs, Fernanda e Isabela por todo apoio, compreensão e carinho.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Márcia Messias, pelo apoio, orientação, paciência, por acreditar em mim para a realização deste trabalho e por disponibilizar os meios necessários para que este fosse concluído.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Maria Goreti, por estar sempre atenta as necessidades do grupo e por disponibilizar os meios necessários para realização deste trabalho.

À M<sup>a</sup>. Mariana Potes pela paciência, orientação e sempre me apoiar nos momentos críticos.

Ao Dr. Alexandre de Jesus pela sua imprescindível ajuda e inestimáveis conselhos, os quais foram de suma importância na condução deste trabalho.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Emilene Becker e à Professora Dr<sup>a</sup>. Morgana Dessuy por terem contribuído amplamente no desenvolvimento e na conclusão deste estudo.

Aos meus colegas do Grupo de Análise de Traços (GAT – UFRGS): Álvaro, Aline, Antônio, Ariane, Débora, Marcelo, Marianna, Tatiane e William, por me receberem e ajudarem ante as dúvidas.

## RESUMO

A determinação de elementos em nível de traço, tais como cádmio, mercúrio e chumbo, é de suma importância no controle de qualidade de alimentos devido ao alto potencial tóxico destes e de outros metais nesta condição. Devido à crescente demanda, a necessidade de técnicas mais sensíveis e precisas, diminuição de custos – oriundo dos reagentes, equipamento, etc. – e simplificação das metodologias para uma maior rapidez das análises, justificam assim, o desenvolvimento de novos métodos para a quantificação destes elementos.

O presente estudo aplicou uma técnica relativamente recente de introdução de amostra, a *geração fotoquímica de vapor* (PVG), a qual separa o analito da amostra mediante a geração de espécies voláteis deste e estando, a técnica, hifenada a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (PVG-GF AAS) permitiu a determinação de mercúrio na quantidade de traço em alimentos e fórmulas infantis. Estudos de otimização e curvas de calibração externa foram realizados para diferentes precursores orgânicos de baixo peso molecular (propanol, ácido fórmico, etc). Avaliaram-se diferentes métodos de preparo de amostra para alimentos de transição e fórmula infantil mediante testes de recuperação de Hg, uma vez que os teores deste analito, nas amostras analisadas, encontrava-se abaixo dos LOD's. Os melhores LOD e LOQ encontrados foram 0,36 e 1,19 ng respectivamente, e a massa característica de 0,19 ng, quando o precursor era o ácido fórmico juntamente com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Contudo, os melhores resultados obtidos no teste de recuperação de Hg foram com diferentes tratamentos de amostra, um com hidróxido de tetrametilamônio (alimento de transição), e outro com ácido fórmico (fórmula infantil). Os LOD's e LOQ's obtidos ao empregar diferentes precursores estão todos abaixo dos teores previstos pela legislação vigente, o que demonstra que a técnica é adequada para a determinação de Hg em amostras de alimentos.

Palavras-chave: mercúrio, espectrometria de absorção atômica, forno de grafite, geração fotoquímica de vapor, alimentos, fórmulas infantis, elementos-traços,

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Configuração típica de um espectrômetro de absorção atômica.....	18
Figura 2 - Representação de uma lâmpada de cátodo oco.....	18
Figura 3 - Representação esquemática de um forno de grafite, sendo o feixe de radiação retratado pela seta em vermelho. ....	19
Figura 4 - Representação esquemática do sistema empregado pela PVG.....	26
Figura 5 - Estudo de otimização do fluxo de gás de arraste (Argônio) na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg. ....	29
Figura 6 - Estudo de otimização da vazão de amostra na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg (T <sub>a</sub> = 600 °C). ....	30
Figura 7 - Estudo de otimização da temperatura de coleta das espécies voláteis do analito na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg (T <sub>a</sub> = 700 °C). ....	31
Figura 8 - Estudo de otimização da temperatura de atomização na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor: ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg.....	32
Figura 9 - Sinais de absorvância para diferentes temperaturas de atomização: (a) 500 °C e (b) 600 °C. Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg, precursor: ácido fórmico (10% v/v). Correção do sinal de fundo ( <i>background</i> ) em vermelho (linha de base). ....	32
Figura 10 - Estudo de otimização da concentração de precursor para a determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng/mL de Hg (T <sub>a</sub> = 700 °C). ....	33
Figura 11 - Perfil de absorvância de uma solução de 5 ng.mL <sup>-1</sup> com TMAH como precursor (10% v/v). Correção do sinal de fundo ( <i>background</i> ) em vermelho (linha de base). T <sub>a</sub> = 600 °C).....	34
Figura 12 - Estudo de interferência do HCl, tendo como precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL <sup>-1</sup> de Hg. (T <sub>a</sub> = 600 °C). ....	35
Figura 13 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando ácido fórmico (10% v/v) como precursor e 1,5 mol.L <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (n=3, para cada ponto), sendo A <sub>int</sub> o valor de absorvância integrada em s; e m a massa do analito em ng.....	36
Figura 14 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando TMAH (10% v/v) como precursor (n=3, para cada ponto), sendo A <sub>int</sub> o valor de absorvância integrada em s; e m a massa do analito em ng. ....	37

Figura 15 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando propanol (10% v/v) como precursor (n=3, para cada ponto), sendo $A_{int}$ o valor de absorvância integrada em $s$ ; e $m$ a massa do analito em $ng$ .....	37
Figura 16 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando ácido fórmico (10% v/v) como precursor (n=3, para cada ponto), sendo $A_{int}$ o valor de absorvância integrada em $s$ ; e $m$ a massa do analito em $ng$ .....	38
Figura 17 - Estudo de otimização da concentração de $H_2O_2$ para a determinação de Hg. Solução-padrão de $5\text{ ng.mL}^{-1}$ de Hg analisada. Precursor: ácido fórmico 10% (v/v).....	42
Figura 18 - Perfil de absorvância da amostra de papinha baseada em carne de peixe fortificada com $5\text{ ng.mL}^{-1}$ de Hg ( <i>spike</i> ). Precursor: TMAH (10% v/v). Correção do sinal de fundo ( <i>background</i> ) em vermelho (linha de base).....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Normativas para a produção e comercialização de alimentos de transição e fórmulas infantis.* .....	15
Tabela 2 - Programa de temperatura para o recobrimento do forno de grafite com modificador químico (250 µg de Au). .....	25
Tabela 3 - Programa de temperatura do forno de grafite para a determinação de mercúrio. ...	25
Tabela 4 – Tratamentos avaliados para diferentes amostras. ....	27
Tabela 5 - Valores dos parâmetros otimizados para a determinação de Hg total por PVG-AAS. Precursor: ácido fórmico. ....	33
Tabela 6 - Parâmetros de mérito para determinação de Hg por PVG-GF AAS. (Prop.: propanol; AF: ácido fórmico; TMAH: hidróxido de tetrametilamônio) .....	38
Tabela 7 - Recuperações obtidas para diferentes métodos de preparo. (A: papinha baseada em carne bovina, B: papinha baseada em carne de peixe; C: fórmula infantil)* .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA.....	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AAS.....	Espectrometria de absorção atômica (do inglês: <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> ).
CRM.....	Material de referência certificado (do inglês: <i>Certified Reference Material</i> )
HCL	Lâmpada de catodo oco (do inglês: <i>Hollow Cathode Lamp</i> )
GF AAS.....	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês: <i>Graphite furnace Atomic absorption spectrometry</i> ).
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês: <i>Flame Atomic absorption spectrometry</i> ).
DHA	ácido docosa-hexaenóico (do inglês: <i>docosahexaenoic acid</i> )
GLS.....	Separador Gás-Líquido (do inglês: <i>Gas-Liquid Separator</i> ).
CV AAS.....	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (do inglês: <i>Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i> )
PVG-AAS.....	Espectrometria de absorção atômica por geração fotoquímica de vapor (do inglês: <i>Photochemical Vapor Generation – Atomic Absorption Spectrometry</i> )
RSD.....	Desvio padrão relativo (do inglês: <i>Relative Standard Deviation</i> )
LOD.....	Limite de detecção (do inglês: <i>Limit of Detection</i> )
LOQ.....	Limite de quantificação (do inglês: <i>Limit of Quantification</i> )
TMAH.....	Hidróxido de tetrametilamônio
AF.....	Ácido fórmico
PROP.....	Propanol

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
2.1. Geral .....	13
2.2. Específicos.....	13
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
3.1. Alimentos de transição e fórmulas infantis: aspectos gerais, legislação e normas.....	14
3.2. Mercúrio: aspectos gerais .....	15
3.3. Espectrometria de absorção atômica .....	16
3.3.1. Geração química de vapor .....	19
3.3.2. Geração fotoquímica de vapor.....	21
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>24</b>
4.1. Materiais e reagentes .....	24
4.2. Modificador químico .....	24
4.3. Equipamentos .....	25
4.4. Amostras e tratamento de amostra .....	27
4.5. Curvas de calibração e parâmetros de mérito avaliados.....	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
5.1. Otimizações das condições de geração fotoquímica de vapor de mercúrio .....	29
5.2. Estudo de interferência por cloretos .....	34
5.3. Curvas de calibração externa e parâmetros de mérito .....	36
5.4. Recuperações e estudo com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	39
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os organismos vivos requerem uma determinada quantidade de elementos (ou minerais), os quais são essenciais para o seu crescimento, desenvolvimento e manutenção de funções biológicas. Contudo, esta necessidade está contida em uma faixa relativamente estreita de concentração (normalmente na quantidade de traço), sendo que a falta ou o excesso de alguns destes elementos pode provocar alterações no estado de saúde do indivíduo. A obtenção destes minerais ocorre por meio da ingestão de alimento, sendo Zn, Se, Cu, Na, Ca, Fe, e Mg os principais exigidos na dieta diária de um ser humano uma vez que estes desempenham funções biológicas vitais, atuando como componentes de controle de mecanismos, estabilizadores de estruturas biológicas e ativadores de sistemas redox. Com o avanço tecnológico, as indústrias obtiveram êxito no desenvolvimento de técnicas para a produção de alimentos fortificados com os minerais acima mencionados, fazendo que sejam supridas as demandas diárias de ingestão destes.

No contexto da alimentação de lactentes (crianças com incompletos 12 meses de idades) e crianças de primeira infância (crianças entre 12 meses e 3 anos de idade), a produção de alimentos fortificados passou a ser cada vez mais requisitada, uma vez que o advento da industrialização fez diminuir o tempo de contato entre mãe e filho, bem como situações envolvendo enfermidades, tanto da criança (em razão da fragilidade inerente ao infante ante a sua imaturidade fisiológica), quanto da genitora (doenças como o HIV) que impossibilitam a amamentação. Fórmulas infantis na forma de farinhas e alimentos de transição na forma de purês (papinhas) são os mais empregados como alternativas ao aleitamento materno, visto a sua facilidade no preparo e disponibilidade diversificada. Uma vez já estabelecida a necessidade de determinados elementos na base alimentar da criança, e também a ausência de outros – como Pb e Hg, a informação da composição química presente nesta classe de alimentos auxilia os especialistas e/ou genitores na escolha nutricional adequada.

Informações referentes à concentração de elementos na quantidade de traço podem ser obtidas por técnicas de alta sensibilidade, tal como a espectrometria de absorção atômica. Entretanto a inserção de amostra e a posterior conversão do analito em uma forma adequada para a mensuração deste (*derivatização*) em equipamentos que empregam esta técnica, demonstram-se os principais – mas não os únicos – obstáculos na análise instrumental. A aplicação de estudos mais avançados no desenvolvimento de métodos precisos foi a consequência em tentar resolver tais impasses.

Em meados de 2003, foram publicados os primeiros estudos envolvendo a geração fotoquímica de vapor (PVG, do inglês: *photochemical vapor generation*), a qual é uma técnica de inserção de amostra que consiste na retirada do analito de sua matriz. Para isto, empregam-se precursores orgânicos de baixo peso molecular (ácido fórmico, ácido acético, propanol) e radiação ultravioleta (UV-C), oriunda de um reator fotoquímico, de forma que estes auxiliam na formação de espécies voláteis do analito, as quais são separadas de sua matriz em um separador gás-líquido (GLS, do inglês: *gas-liquid separator*). Mesmo sendo poucos os estudos feitos para a determinação do mecanismo ocorrido no interior do reator, alguns autores sugerem que a formação das mencionadas espécies voláteis (redução do analito) ocorre por via radicalar (*reações fotorredox*). A metodologia, acima descrita, surgiu como uma alternativa à geração química de vapor (CVG, do inglês: *chemical vapor generation*), a qual emprega reagentes redutores ( $\text{NaBH}_4$  e  $\text{SnCl}_2$ ) para a retirada do analito de sua matriz e, posterior, quantificação. A PVG foi desenvolvida visando contornar as desvantagens inerentes à CVG, como o elevado custo, interferência proveniente de metais de transição e a instabilidade dos reagentes, em meio aquoso, empregados para esta redução.

Técnicas baseadas na espectrometria atômica são geralmente empregadas nestes métodos alcançando melhores limites de detecção (LOD, do inglês: *limit of detection*) e quantificação (LOQ, do inglês: *limit of quantification*). Todavia, quando um espectrômetro de absorção atômica com um tubo de grafite como atomizador é empregado, faz-se necessário o uso de modificadores químicos para a retenção *in situ* das espécies voláteis do elemento, (separadas de sua matriz pelo gás carreador em um GLS) obtendo-se, assim, melhores reprodutibilidade e sensibilidade nas análises, como foi constatado por alguns autores.

O presente estudo aplicou a geração fotoquímica de vapor (PVG), hifenada a um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS, do inglês: *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) para a determinação de mercúrio em alimentos de transição e fórmulas infantis.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Desenvolvimento de método analítico para a determinação de mercúrio total em alimentos de transição (papinhas) e fórmulas infantis através do emprego da geração fotoquímica de vapor hifenado a um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite.

### **2.2. Específicos**

- 1- Avaliar o emprego da geração fotoquímica de vapor como técnica de inserção de amostra para a determinação de mercúrio;
- 2- Verificar as condições ótimas a serem empregadas nas mensurações (vazão de gás de arraste, tempo de exposição da amostra a radiação UV, temperatura de coleta e atomização);
- 3- Avaliação do emprego de diferentes precursores orgânicos;
- 4- Avaliar métodos de preparo de amostras mediante testes de recuperação.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. Alimentos de transição e fórmulas infantis: aspectos gerais, legislação e normas

O leite materno é a fonte de nutrição mais recomendada para os lactentes por conter nutrientes, hormônios e anticorpos nas quantidades adequadas para estes. Contudo, quando as genitoras não podem (ou optam por não) amamentar, fórmulas infantis são alternativas adequadas para a alimentação das crianças, uma vez que essas são produzidas de forma a possuir uma composição aproximada do leite humano. Para isto, ocorre a fortificação destas com minerais essenciais, vitaminas e ácidos graxos da classe ômega-3 (e.g. ácido docosahexaenóico – DHA, do inglês: *docosahexaenoic acid*), sendo adicionados conforme as necessidades de ingestão diárias destes.<sup>1-3</sup> Alimentos de transição, contudo, são destinados a criança saudáveis, a partir dos 6 meses de idade, como alimentos complementares ao aleitamento.<sup>4</sup>

A regulamentação de alimentos de transição e fórmulas infantis seguem as diretrizes da agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA) e normas expedidas pelos poderes Legislativo e Executivo, as quais seguem as premissas da organização mundial da saúde (OMS) e do *Codex Alimentarius Commission*, o qual é uma comissão internacional com 160 delegados (entre eles o Brasil) que elaboram normas, diretrizes e códigos para práticas alimentares adequadas.<sup>4,5</sup> Estes visam uniformizar as características mínimas quanto à qualidade desta classe de alimentos.

O decreto n° 55.871 e a Portaria n° 685 estabelecem os teores máximos de contaminantes inorgânicos (As, Cu, Cd, Hg, Sn, Pb e etc) em alimentos.<sup>6, 7</sup> A Portaria n° 34 define o que são alimentos de transição; e as Resoluções 42 a 49 definem o que são fórmulas infantis, lactentes e crianças de primeira infância.<sup>8</sup> As principais normas destinadas a esta classe de alimentos, no Brasil, estão sumarizada na Tabela 1.

Tabela 1 - Normativas para a produção e comercialização de alimentos de transição e fórmulas infantis.<sup>6, 8-13</sup>

<b>Normativa</b>	<b>Ano</b>	<b>Entidade</b>	<b>Descrição</b>
Decreto nº 55.871	1965	Poder Executivo	Teores máximos de metais em alimentos.
Portaria nº 685	1998	ANVISA	Teores máximos de metais em alimentos específicos.
Resolução - RDC nº 42 a 49	2011-2014	ANVISA	Definições legais.
Resolução - RDC nº 222	2002	ANVISA	Orientações de uso apropriado dos alimentos.
Portaria nº 34	1998	ANVISA	Características mínimas de qualidade do alimento.
Resolução - RDC nº 54	2012	ANVISA	Teores de ácidos graxos (ômega 3, 6 e 9) e demais nutrientes.
Lei nº 11.265	2006	Poder Executivo	Definições legais, rotulagem e promoção comercial.
Resolução - RDC nº 18 e 19	1999	ANVISA	Alimentos com propriedades funcionais.

### 3.2. Mercúrio: aspectos gerais

O mercúrio é um metal pesado altamente tóxico ao ser humano (atuando no sistema nervoso central e periférico), bem como um conhecido poluente global, sendo o descarte indevido de resíduos industriais, mineração e queima de combustíveis fósseis as principais fontes antropogênicas deste elemento (8000-38000 ton/ano de Hg são lançadas no meio ambiente por estas atividades), além das fontes naturais (atividades vulcânicas, intemperismo, etc).<sup>14-18, 19, 20</sup> Este elemento se apresenta em diferentes estados facilmente interconvertíveis, tais como Hg<sup>0</sup> (elementar), Hg<sub>2</sub><sup>+2</sup> (mercuroso) e Hg<sup>+2</sup> (mercúrico), formando compostos organometálicos ou sais, os quais possuem diferentes propriedades toxicológicas.<sup>14, 15, 21-23</sup>

Das diferentes formas químicas apresentadas por este elemento, todas são voláteis abaixo de 500 °C, e são facilmente convertíveis a sua forma elementar (Hg<sup>0</sup>). Quando nesta, além de ser o único metal líquido a temperatura ambiente, possui uma elevada pressão de vapor, sendo a concentração de saturação na atmosfera de 14 mg.m<sup>-3</sup>.<sup>19</sup>

Dois importantes episódios envolvendo intoxicação aguda por compostos de mercúrio ocorreram: um em 1950, onde uma indústria produtora de acetaldeído despejou rejeitos contendo metilmercúrio na baía de Minamata (Japão), o que resultou em mais de 100 mortes em razão do consumo de peixe contaminado; e outro em 1970, onde foram consumidos pães feitos com sementes tratadas com fungicidas à base de metilmercúrio em Basra (Iraque). Após esses incidentes, o emprego de organomercuriais na indústria e na agricultura foi banido.<sup>19,20,24,25</sup> A legislação brasileira prevê uma concentração máxima de  $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$  de Hg em qualquer alimento<sup>6</sup>, contudo, para peixes é permitida a concentração máxima de  $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (presa) e  $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$  (predador).<sup>7</sup>

Teores de mercúrio em alimentos, normalmente, são baixos (entre 1 e  $200 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ), o que demanda um grande esforço na sua determinação. Sua entrada na cadeia alimentar é oriunda da transformação deste elemento em seus derivados orgânicos ( $\text{HgCH}_3$ ,  $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ ) ocasionada por atividades microbianas em ambientes aquáticos e consequente bioacumulação e biomagnificação destes em animais presentes nestes ecossistemas.<sup>15, 20</sup>

Estudos envolvendo os efeitos por exposição de compostos de mercúrio em lactentes e criança de primeira infância ainda não foram realizados, contudo, presume-se que estes compostos podem atuar no desenvolvimento de doenças neurológicas e cardiovasculares causando danos irreversíveis.<sup>15, 20</sup>

### 3.3. Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria utiliza as interações entre a radiação eletromagnética e a matéria (absortância, transmitância e refletância) como método para a determinação de um analito. Neste contexto, a espectrometria de absorção atômica mensura a quantidade de analito presente na amostra mediante a atenuação (produzida por este) da radiação incidente sobre esta amostra previamente vaporizada. Tal atenuação é ocasionada pela absorção de determinadas frequências (ou comprimentos de onda) desta radiação, por elétrons dos átomos livres do analito. Essa absorção ocorre em virtude da população de átomos se encontrar (segundo uma distribuição de Boltzmann, a qual depende da temperatura) em um estado de menor energia (estado fundamental), visto que um feixe de radiação, oriundo de uma fonte externa, estimula a transição da população de átomos presente neste estado para um de maior energia (estado excitado), conseqüentemente, reduzindo a intensidade da radiação incidente.<sup>19,</sup>

Cada elemento absorve mais intensamente em um comprimento de onda específico, como por exemplo, a população de elétrons no estado fundamental do  $\text{Cd}^0$  absorve mais intensamente em 228,802 nm, enquanto que a população de elétrons do  $\text{As}^0$  no mesmo estado absorve em 193,696 nm. Tal fato caracteriza a técnica como altamente seletiva e específica para cada elemento determinado.<sup>26, 27</sup> No entanto, ao empregar este método de mensuração, o analito deve estar liberto de sua matriz na forma de átomos livres (estado fundamental). Esta restrição é contornada empregando-se um atomizador, o qual decompõe a amostra mediante a vaporização desta, produzindo uma fase gasosa composta apenas por átomos. Há vários tipos de atomizadores, dentre eles os mais empregados neste método são: os atomizadores de chama e os atomizadores eletrotérmicos (cela de quartzo e forno de grafite).<sup>23</sup>

A relação entre a atenuação da radiação e a quantidade de analito é conhecida como lei de absorção ou lei de Lambert-Beer (equação 1), onde  $A$  é a absorvância, a qual é o logaritmo negativo da transmitância ( $T$ );  $\epsilon$  é a absorvidade molar, a qual consiste na probabilidade de ocorrência da absorção (transição eletrônica);  $b$  é o comprimento do caminho óptico; e  $c$  é a concentração do analito.<sup>23</sup>

$$A = -\log_{10} T = \epsilon bc \quad (1)$$

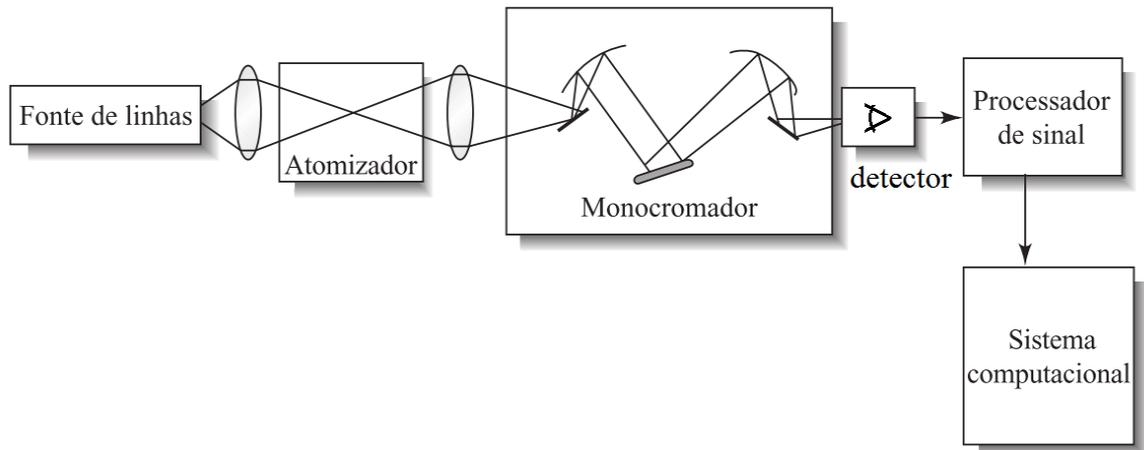
A transmitância ( $T$ ) é a razão entre a intensidade de radiação transmitida pela amostra ( $I$ ) e a intensidade de radiação incidida sobre esta ( $I_0$ ) demonstrada pela equação 2.<sup>23</sup>

$$T = I / I_0 \quad (2)$$

O desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica para fins quantitativos ocorreu mediante os esforços de *sir* Alan Walsh e colaboradores em 1955 empregando um atomizador de chama (F AAS), sendo comercializado o primeiro espectrômetro de absorção atômica em 1959.<sup>23, 26, 28</sup>

Na Figura 1 está apresentada a configuração típica de um espectrômetro de absorção atômica de forma esquemática. Nesta estão presentes os componentes mínimos para que seja possível a mensuração: fonte de radiação, lentes colimadoras, atomizador, monocromador (o qual isola o comprimento de onda de interesse), detector e um sistema de processamento do sinal.

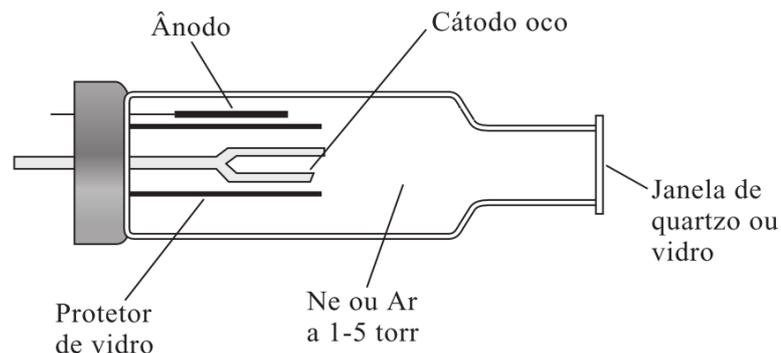
Figura 1 - Configuração típica de um espectrômetro de absorção atômica.



Fonte: SKOOG et al, 2013

A fonte de linha mais empregada na espectrometria de absorção atômica é a lâmpada de cátodo oco (HCL), a qual fornece a radiação necessária para a medida do sinal analítico (absorvância), como foi definido anteriormente. O ânodo desta lâmpada é constituído de tungstênio enquanto que o cátodo é produzido com o metal do analito, ambos selados no interior de um bulbo de vidro preenchido com um gás inerte. Na Figura 2 é mostrada a representação de uma HCL.<sup>23</sup>

Figura 2 - Representação de uma lâmpada de cátodo oco



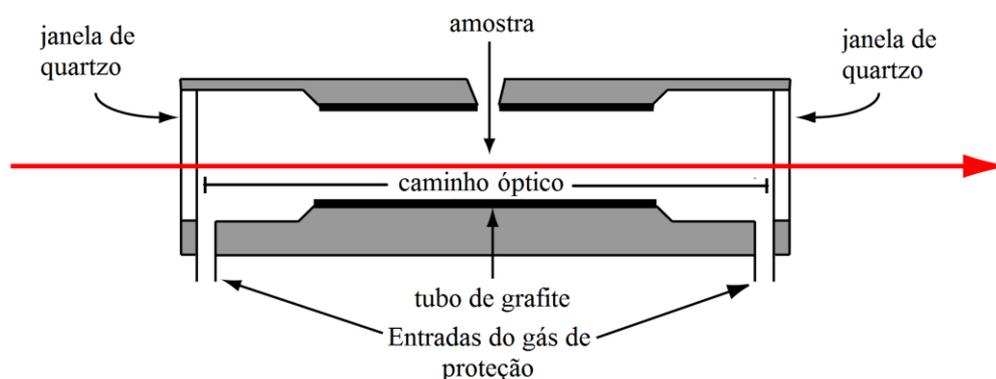
Fonte: SKOOG et al, 2013

O emprego da atomização com forno de grafite na espectrometria de absorção atômica (GF AAS) teve início com os estudos de L'vov em 1956, e após importantes simplificações desenvolvidas por Massmann em 1965, começaram a ser comercializados os primeiros espectrômetros empregando este dispositivo em meados de 1970. No entanto, com o passar dos anos, problemas como a falta de reprodutibilidade entre as medidas e severa susceptibilidade a efeitos de matriz começaram a se tornar um empecilho para a análise

quantitativa.<sup>19, 28</sup> Contudo, isto foi resolvido pelo recobrimento do atomizador com uma fina camada de grafite pirolítico, com a introdução da plataforma de L'vov e do desenvolvimento do conceito forno plataforma com temperatura estabilizada (STPF, do inglês: *stabilized temperature platform furnace*) por Slavin em 1981.<sup>19, 28, 29</sup>

As principais vantagens do emprego do forno de grafite como atomizador, ante ao atomizador de chama, são: a elevada sensibilidade, a possibilidade de pré-concentração do analito (coleta), fácil automatização e elevada abrangência quanto aos estados físicos da amostra (amostragem sólida, líquida ou gasosa), dependendo do método a qual esta será submetida.<sup>23, 28</sup> Na Figura 3 é mostrada uma representação de um forno de grafite sem plataforma L'vov.

Figura 3 - Representação esquemática de um forno de grafite, sendo o feixe de radiação retratado pela seta em vermelho.



Fonte: HARVEY, 2013

### 3.3.1. Geração química de vapor

Métodos baseados na geração química de vapor (CVG), como a geração de hidretos (HG) e a geração de vapor frio (CV, do inglês: *cold vapor*), são os mais destacados para a quantificação de traços de elementos, visto a facilidade de separação do analito de sua matriz, o que reduz e até elimina interferências oriundas desta, além da simplificada implementação e automatização.<sup>18, 30-32</sup> Estes métodos empregam reagentes redutores, tal como o  $\text{NaBH}_4$  (ou  $\text{SnCl}_2$  para determinação de Hg) na amostra previamente tratada, para a redução do analito por meio da geração de espécies voláteis deste, sendo estas separadas de sua matriz em um separador gás-líquido (normalmente o próprio recipiente reacional) seguida da pré-concentração ou quantificação direta desse analito em um atomizador.<sup>33-35</sup>

A CV consiste em uma ramificação da HG e diferencia-se desta devido ao emprego de temperatura (para a atomização do analito) ser prescindível. A CV AAS é um método tradicional para a determinação de mercúrio em razão da fácil redução e alta pressão de vapor deste analito a temperatura ambiente (0,0016 mbar, 20 °C – 0,0027 mbar, 25 °C), quando na forma elementar.<sup>14, 18, 19, 22, 23, 23, 30</sup> Este método tornou-se o mais largamente utilizado em virtude da melhora nos limites de detecção, ausência de interferências espectrais e das boas precisões.<sup>14, 18, 31, 36</sup>

Yang e colaboradores (2002) empregaram a CV AAS para a determinação de mercúrio total em tecidos biológicos mediante o emprego de um tubo de grafite previamente recoberto com Zr e Pd, obtendo resultados satisfatórios. O tratamento de amostra consistiu em uma digestão por via úmida com HNO<sub>3</sub> e decomposição assistida por micro-onda.<sup>18</sup>

Kan e colaboradores (2006) determinaram mercúrio total em amostras biológicas mediante amalgamação com ouro, empregando um sistema de injeção em fluxo (FI, do inglês: *flow injection*) em conjunto com a CV AAS. Neste estudo as amostras foram solubilizadas com ácido fórmico e/ou TMAH, sendo todo o analito previamente oxidado a Hg<sup>+2</sup> com BrCl. Os resultados obtidos foram satisfatórios, visto o preparo de amostra não ser trabalhoso.<sup>37</sup>

Flores e colaboradores (2001) desenvolveram um método para a determinação de mercúrio total em amostras de carvão mineral utilizando a CV AAS. O tratamento da amostra consistiu em moagem e suspensão desta em solução aquosa de HNO<sub>3</sub>, sendo esta suspensão analisada. Neste estudo foi avaliado o emprego de três modificadores químicos permanentes (Au, Rh e Ir). Constatou-se que resultados melhores eram obtidos quando a suspensão era submetida a maiores tempos de repouso em HNO<sub>3</sub>, o que fazia diminuir o tamanho das partículas, demonstrando que os resultados obtidos dependiam do tamanho destes particulados.

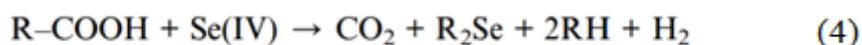
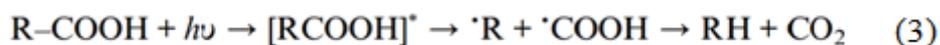
Como foi demonstrado pelos estudos acima descritos, a CVG se mostra como uma técnica vantajosa para a determinação de elementos formadores de espécies voláteis (Ag, Au, As, Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, I, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, S, Sb, Se, Sn e Te.). Contudo, o alto custo e a instabilidade apresentada pelos reagentes em meio aquoso, como o NaBH<sub>4</sub> (sendo estes uma provável fonte de contaminação), além do risco de interferências provocadas pela presença de metais de transição na determinação de elementos formadores de hidretos voláteis, evidenciam-se, ainda, como uma preocupação para o analista.<sup>14, 32, 33, 39</sup>

### 3.3.2. Geração fotoquímica de vapor

A geração fotoquímica de vapor (PVG) é uma emergente técnica de introdução de amostra e vem se apresentando como uma poderosa alternativa, em virtude das suas vantagens ante aos métodos convencionais (CVG). Este método substitui os famosos reagentes redutores ( $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{KBH}_4$  ou  $\text{SnCl}_2$ ) por reagentes orgânicos de baixo peso molecular (<5 kDa) e pelo uso de um reator fotoquímico, o qual é composto por uma fonte de radiação ultravioleta (UV-C) – devido à ocorrência de reações radicalares envolvidas na redução do analito (*reações fotorredox*).<sup>33, 35, 36, 39-42</sup>

Esta metodologia segue os princípios da química verde, uma vez que reagentes são empregados simultaneamente como solubilizadores em uma etapa e precursores em outra; além da aplicação de radiação UV ser uma forma de tratamento simples e limpa, o que contribui com a diminuição e/ou atenuação da formação de resíduos.<sup>43-45</sup>

Guo e colaboradores (2003) foram os primeiros a caracterizar e aplicar a PVG como método de inserção de amostra para a determinação de selênio, empregando um espectrômetro de absorção atômica (PVG-AAS) como sistema de detecção. Neste estudo foram apresentadas as motivações que levaram ao desenvolvimento desta nova metodologia, estudos de otimização, a primeira configuração de um reator fotoquímico (percurso em espiral) e, inclusive, uma proposta de mecanismo, conforme as equações 3 e 4:



O mecanismo proposto por estes autores consiste na quebra homolítica do precursor orgânico (ácidos carboxílicos, alcoóis, aldeídos, etc) provocada pela radiação ultravioleta fornecida pelo reator fotoquímico, gerando radicais (equa), os quais reagem com o analito formando espécies voláteis deste (no caso,  $\text{R}_2\text{Se}_{(g)}$ ).<sup>33</sup>

Vieira e colaboradores (2007) empregaram a PVG-AAS para a determinação e especiação de mercúrio em amostras biológicas mediante estudos de diversos parâmetros, tais como: a influência de diferentes precursores orgânicos na geração (ácidos fórmico e acético), efeito do pH da amostra, tempo de irradiação e diferentes fontes de radiação (comparação entre o emprego de luz visível e UV para uma possível especiação do analito). Por este estudo, constatou-se que o TMAH (empregado para tratar a amostra) atua como um precursor

para a ocorrência das reações radicalares, uma vez que gerou espécies voláteis do analito possibilitando a quantificação deste e, inclusive, apresentando bons parâmetros de mérito, para um preparo de amostra rápido e simples.<sup>44</sup>

Zheng e colaboradores (2010), empregando um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) como sistema de detecção, avaliaram um novo modelo de reator fotoquímico (filme fino), no qual a lâmpada de UV e o separador gás-líquido estavam contidos em um único dispositivo. O desempenho deste foi avaliado para diferentes elementos (As, Sb, Bi, Se, Te, Hg, Ni, Co, Fe e I) alcançando excelentes parâmetros de mérito.<sup>46</sup>

De Jesus e colaboradores (2014) determinaram Hg em amostras de gasolina, sendo o primeiro relato do emprego da PVG em amostras de combustíveis comerciais. Neste estudo foram avaliados reatores fotoquímicos com diferentes configurações, diferentes sistemas de detecção e preparos de amostras distintos. Os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que foram comparados com dados retirados da literatura. Os autores estimaram em 60% a eficiência de geração das espécies voláteis do analito pela PVG, assumindo a CV AAS como referencial. A vantagem apresentada pelos autores é o simples e rápido tratamento de amostra, o qual consistia na diluição desta com diferentes volumes de precursores orgânicos, sem a necessidade de digestão.<sup>47</sup>

Lisboa e colaboradores (2015) determinaram Hg em glicerina pura e residual (oriunda da produção de biodiesel), empregando três técnicas: PVG-AAS, CV AAS com  $\text{NaBH}_4$  e CV AAS com  $\text{SnCl}_2$  sendo estas avaliadas mediante curvas de calibração interna e externa, e testes de recuperação. O preparo de amostra consistiu na mistura da glicerina pura com ácido fórmico (precursor), enquanto que na glicerina residual, além do precursor, etanol também foi aplicado. Esta adição de etanol teve como objetivo contrabalancear os efeitos do metanol residual presente neste tipo de amostra, o qual reduz a eficiência de geração. Estes autores constataram, também, uma eficiência de geração de aproximadamente 60%, empregando a CV AAS como referencial.<sup>22</sup>

Mediantes os trabalhos apresentados, a PVG demonstra ser uma técnica de inserção de amostra eficiente. Esta reduz custos em virtude dos reagentes empregados e simplifica o tratamento de amostra, o qual demanda mais tempo, sendo o responsável pela elevação nos custos da análise nas técnicas convencionais.

Neste trabalho foi avaliado o emprego de diferentes precursores orgânico para a determinação de Hg em amostras de alimentos e fórmulas infantis, sendo investigadas as condições ótimas a serem empregadas na análise (para a obtenção de melhores parâmetros de

mérito) e diferentes preparos de amostra, uma vez que a composição de cada amostra era distinta.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Materiais e reagentes

Neste trabalho, utilizaram-se apenas reagentes de grau analítico para o preparo de todas as soluções. As soluções-padrão foram preparadas a partir de uma solução de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  obtida através da diluição de uma alíquota da solução-estoque de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de Hg (Merck – Darmstadt, Alemanha). Esta diluição foi feita em meio aquoso, mantendo uma concentração de  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  bidestilado (Merck – Darmstadt, Alemanha). As soluções de trabalho foram preparadas diluindo alíquotas retiradas de uma solução-padrão de  $500 \text{ ng mL}^{-1}$  (sendo esta preparada diariamente), a qual é oriunda da diluição – apenas com água ultrapura – da anteriormente mencionada solução de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ , para a obtenção das concentrações, em  $\text{ng mL}^{-1}$  de 2,5, 5, 10, 15, 20 e 25, que foram usadas na confecção das curvas de calibração externa.

A ultrapurificação da água, utilizada para a preparação das soluções mencionadas, foi efetuada por meio de um sistema de purificação de água Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore – Massachusetts, EUA) com uma resistividade específica de  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ . Os precursores orgânicos usados no presente estudo foram: ácido fórmico (Labsynth – São Paulo, Brasil), também usado para a solubilização das amostras; e propanol (Labsynth – São Paulo, Brasil) não sendo purificados previamente. Para a solubilização das amostras se empregou hidróxido de tetrametilamônio – TMAH 25% (m/v) em água (Merck – Darmstadt, Alemanha) ou  $\text{H}_2\text{O}_2$  35% (v/v) em água (Merck – Darmstadt, Alemanha). Para a avaliação da presença de cloretos como interferentes foi empregado HCl (Labsynth – São Paulo, Brasil) bidestilado em um destilador *subboiling*.

A limpeza da vidraria utilizada foi feita com detergente e água, seguida da imersão da mesma em uma solução de  $\text{HNO}_3$  10% (v/v) mantido por, no mínimo, 48 horas e, logo após, lavada três vezes com água ultrapurificada, sendo seca em capela de fluxo laminar antes de ser empregada na análise.

### 4.2. Modificador químico

Empregou-se uma solução-padrão de Au  $1000 \text{ mg/L}$  – SpecSol<sup>®</sup> (QuimLab – São Paulo, Brasil) como modificador permanente, recobrando o tubo de grafite através da injeção de  $50 \mu\text{L}$  desta solução e aplicando o programa de temperatura, apresentado na Tabela 2, sendo este adaptado da literatura.<sup>38</sup> Este procedimento foi repetido cinco vezes (massa total de  $250 \mu\text{g}$  de Au).

Tabela 2 - Programa de temperatura para o recobrimento do forno de grafite com modificador químico (250 µg de Au).

Etapa	Parâmetros			Fluxo de gás*
	Temperatura, °C	Rampa, °C/s	Patamar, s	
1	110	10	50	Máximo
2	160	30	50	Máximo
3	900	50	10	Mínimo
4	1000	1	15	Máximo

\*Mínimo: 0,1 L.min<sup>-1</sup>; Máximo: 2,0 L.min<sup>-1</sup>.

### 4.3. Equipamentos

As mensurações foram realizadas utilizando, como sistema de detecção, um espectrômetro de absorção atômica modelo AAS 5 EA (Carl Zeiss – Jena, Alemanha), equipado com um atomizador eletrotérmico, no caso, um tubo de grafite com aquecimento transversal sem plataforma L'vov (GF AAS), sendo o programa de temperatura deste apresentado na Tabela 3. A fonte de radiação empregada foi uma lâmpada de cátodo oco de Hg (Bravoluz – Curitiba, Brasil) com uma corrente elétrica ajustada para 2,0 mA, a linha em 253,7 nm foi escolhida, fenda de 1,2 nm e tempo de integração de 4 s. A correção do sinal de fundo (*background*) foi realizada pela radiação de uma lâmpada de deutério (correção por fonte contínua). Todas as mensurações foram feitas no modo de absorvância integrada.

Tabela 3 - Programa de temperatura do forno de grafite para a determinação de mercúrio.

Etapa	Parâmetros			Fluxo de gás*
	Temperatura, °C	Rampa, °C/s	Patamar, s	
<i>Pré-aquecimento</i>	100	25	33	Mínimo
<i>Coleta</i>	100	25	20	Nulo
<i>Auto zero</i>	100	0	15	Nulo
<i>Atomização</i>	600	1400	4	Nulo
<i>Limpeza</i>	900	200	10	Máximo

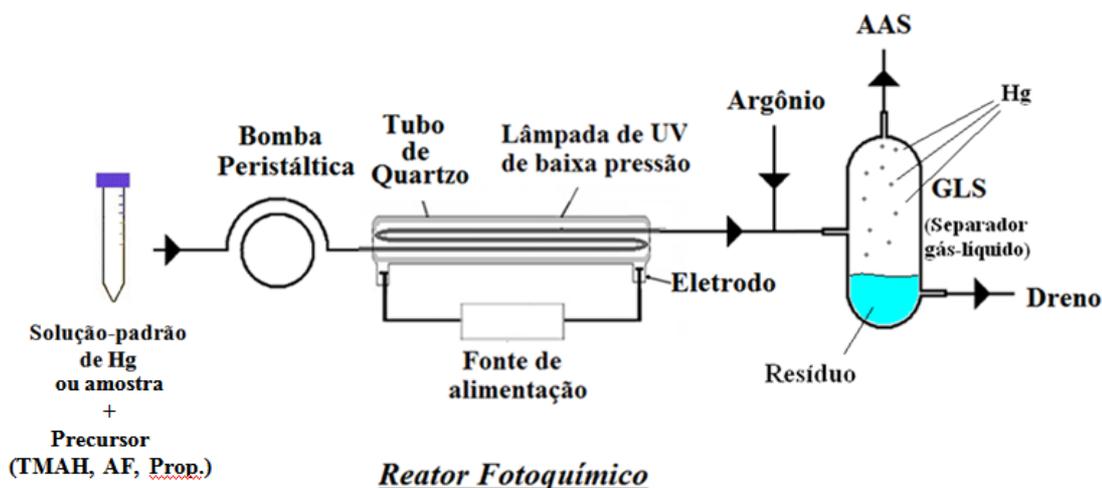
\*Mínimo: 0,1 L.min<sup>-1</sup>; Máximo: 2,0 L.min<sup>-1</sup>.

Para a homogeneização das amostras, utilizou-se um agitador de tubos do tipo vortex modelo MA-162 (Marconi – São Paulo, Brasil); e um sonicador/banho ultrassônico modelo USC-1880A (Unique – São Paulo, Brasil) com frequência de 37 kHz, potência 120 W e ajuste de temperatura por meio de um banho de água de até 80 °C.

O tempo de exposição da amostra à radiação UV foi controlado por intermédio de uma bomba peristáltica Reglo Analog modelo MS/CA 2/8-160 (Ismatec – Glattbrugg, Suíça) com um intervalo de vazão de 1,0 a 7,0 mL·min<sup>-1</sup>, equipada com um tubo flexível de PVC com as seguintes dimensões: 0,206 cm i.d. x 45,5 cm (especificações: 3-stop tags ID: purple/purple/purple, 90 mm entre tags).

O reator fotoquímico consistia em um percurso retorcido de quartzo (com dimensões 0,11 cm i.d. x 84 cm – volume interno de 0,8 mL), o qual se encontrava inserido no interior de uma lâmpada de baixa pressão de Hg – UV-C (Beijing Titan Instruments Co. – Pequim, China). O gás argônio (White Martins Gases Industriais Ltda. – Rio de Janeiro, Brasil), com grau de pureza de 95,5% foi escolhido como gás de arraste. Empregou-se um separador gás-líquido (GLS), com um volume de 10 mL, para que as espécies voláteis geradas fossem separadas da matriz com o auxílio do gás de arraste e direcionadas para o atomizador, como é esquematizado na Figura 4. O percurso que interligava o reator com o GLS consistia em um capilar para líquidos com dimensões 1,905 cm o.d. x 0,09144 cm i.d. x 42,5 cm; e o que interligava o GLS com o espectrômetro consistia, também, em um capilar para gases com dimensões 1,905 cm o.d. x 0,6096 cm i.d. x 75 cm.

Figura 4 - Representação esquemática do sistema empregado pela PVG.



#### 4.4. Amostras e tratamento de amostra

As amostras analisadas compreendiam alimentos destinados a lactentes e crianças de primeira infância, sendo uma fórmula infantil, na qual um de seus constituintes era o ácido docosa-hexaenóico (DHA – ácido graxo da classe ômega 3) proveniente de óleo de peixe; e dois alimentos de transição na condição de purês (papinhas), uma com carne de peixe e outra com carne bovina.

Como não há materiais de referência certificados (CRMs) contendo mercúrio para esta classe de amostra, a avaliação dos tratamentos de amostra estudados consistiu em fortificar estas com o analito (*spikes*) e analisar as recuperações obtidas.

Os preparos de amostras foram realizados utilizando TMAH (dissolução básica), ácido fórmico (dissolução ácida) ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (dissolução oxidativa). Avaliou-se o emprego de temperatura e sonicação, sendo modificados os tempos os quais permaneceram, as amostras, nestas condições.

Os tratamentos foram adaptados conforme a literatura<sup>37, 44</sup>, sendo realizada a dissolução (com um dos reagentes mencionados acima) de 350 mg de amostra de alimento de transição e 150 mg de fórmula infantil em tubos cônicos de polipropileno com tampa de rosca (tipo Falcon<sup>®</sup>), homogeneizando por meio do emprego de um agitador de tubos, aquecimento em um banho de temperatura e posterior aferição à 10 mL em balão volumétrico.

Na Tabela 4 estão sumarizados os tratamentos avaliados para as diferentes amostras analisadas.

Tabela 4 – Tratamentos avaliados para diferentes amostras.

Amostra	Solubilizador	Volume Solub., mL	Agitador de tubos	Tempo no banho, min.(70 °C)	Sonicação
<i>Papinha de carne bovina</i>	TMAH	1	Sim	40	Não
	AF*	1		180	
<i>Papinha de peixe</i>	TMAH	1	Sim	40	Não
	TMAH	1	Sim	40	Sim (15-40 min)
<i>Fórmula infantil</i>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1-3		40	
	AF:H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1:1		40	
	AF	2		180	

\* AF= Ácido fórmico

#### 4.5. Curvas de calibração e parâmetros de mérito avaliados

Os pontos da curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG foram feitos a partir das soluções-padrão de concentrações, em  $\text{ng mL}^{-1}$  de 2,5, 5, 10, 15, 20 e 25, sendo cada ponto feito em triplicata e analisado um volume de 2 mL. Os valores dos LOD e LOQ foram calculados utilizando o desvio-padrão amostral de dez medidas do branco ( $s_{br}$ ) e o coeficiente angular ( $a$ ) da curva de calibração externa (também definido como sensibilidade) – conforme equações 5 e 6 – a qual foi construída usando o branco (de concentração 0  $\mu\text{g/L}$  de Hg) e as cinco soluções-padrão mencionadas.<sup>19</sup> A Tabela 5 expõe os parâmetros de mérito obtidos utilizando a PVG.

$$\text{LOD} = 3 * s_{br} / a \quad (5)$$

$$\text{LOQ} = 10 * s_{br} / a \quad (6)$$

Outro parâmetro avaliado foi a massa característica ( $m_0$ ), a qual consiste na massa de analito que produz um sinal de absorvância integrada de 0,0044 s, equivalente a 1% do sinal de absorção. Este parâmetro é calculado segundo a equação 7, onde  $m$  é a massa de analito localizada em um ponto intermediário da curva de calibração externa ( $m=10$  ng) e  $A_p$  é o valor da absorvância integrada, em segundos, produzida por esta massa:

$$m_0 = m * 0,0044 / A_p \quad (7)$$

A precisão das medidas foi avaliada por meio do desvio padrão relativo (RSD) em porcentagem, sendo calculado segundo a equação 8, onde  $s$  é o desvio padrão da triplicata e  $x$  a média dos valores de massa.

$$\text{RSD}\% = 100 * s / x \quad (8)$$

As recuperações foram calculadas segundo o equação 9, onde  $A_{am}^f$  é a absorvância integrada (média da triplicata) da amostra fortificada com 10 ng do analito;  $A_{am}$  é a absorvância integrada (média) da amostra; e  $A_p$  é a absorvância integrada de um ponto intermediário da curva de calibração ( $m=10$  ng).

$$\text{Rec.}\% = 100 * (A_{am}^f - A_{am}) / A_p \quad (9)$$

A vida útil do forno e os ciclos de atomização foram outros fatores avaliados uma vez que estes podem ser incluídos como parâmetros de mérito da técnica.

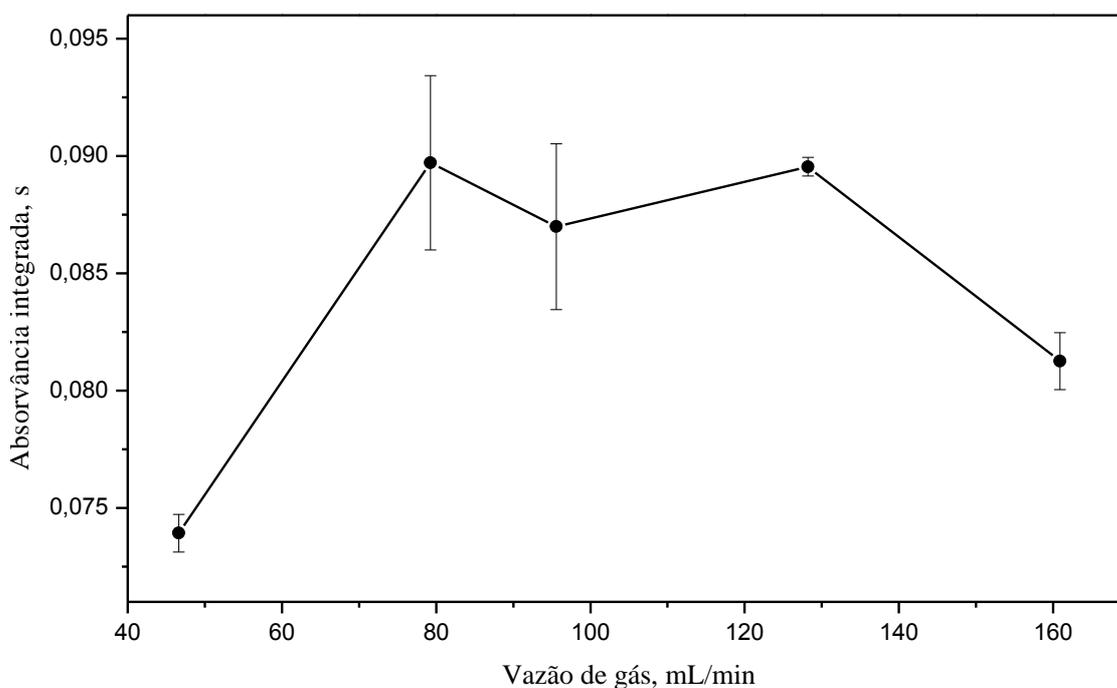
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Otimizações das condições de geração fotoquímica de vapor de mercúrio

Estudos de otimização foram realizados variando-se os seguintes parâmetros: fluxo do gás de arraste no intervalo de 47 a 160 mL.min.<sup>-1</sup>; vazão de amostra no intervalo de 1,0 a 7,8 mL.min.<sup>-1</sup>; temperatura de coleta; temperatura de atomização; concentração de precursor; e concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sendo esta última otimização apresentada na seção 5.4. Todas as otimizações foram realizadas empregando-se um solução-padrão de Hg de 5 ng.mL<sup>-1</sup> com ácido fórmico como precursor, sendo que as mesmas condições otimizadas foram empregadas para os demais precursores. As medidas apresentaram precisões satisfatórias com RSD's abaixo de 5%. Estes estudos estão apresentados nas Figuras 5, 6, 7, 8 e 10, respectivamente.

Na Figura 5 se observa o comportamento do sinal de absorvância integrada ante o fluxo de gás de arraste (argônio), o qual, após a passagem da amostra no reator fotoquímico, auxilia na separação das espécies voláteis do analito (fase gasosa) de sua matriz (fase condensada) no separador gás-líquido, e as transporta até o sistema de detecção (Figura 4).

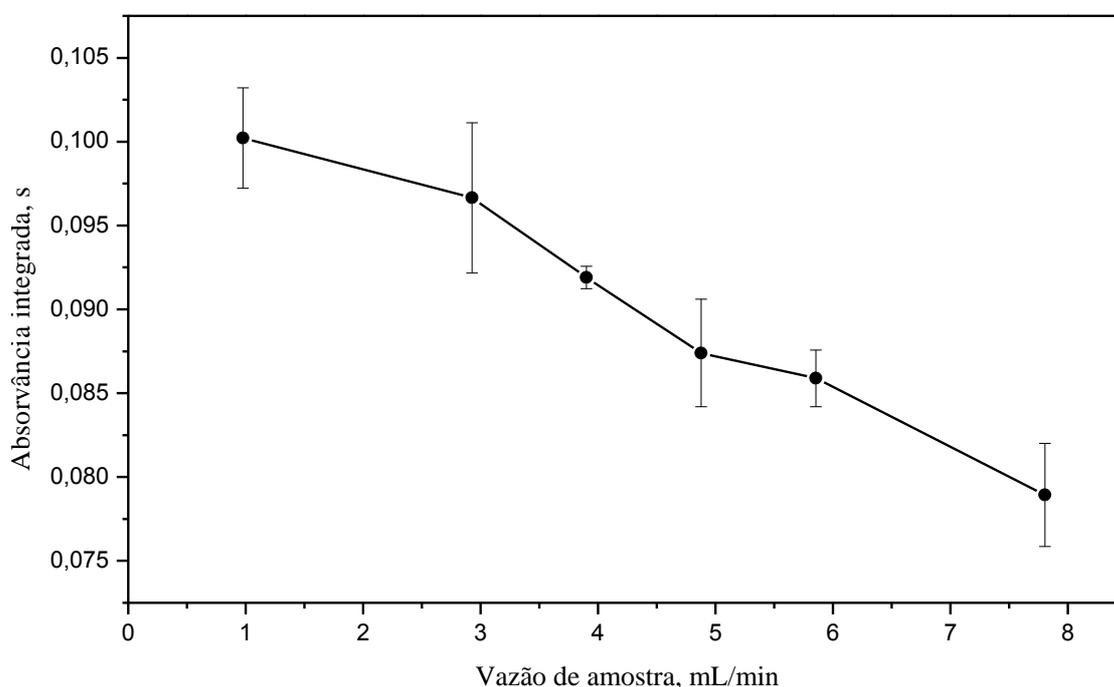
Figura 5 - Estudo de otimização do fluxo de gás de arraste (Argônio) na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL<sup>-1</sup> de Hg.



Constata-se, por esta figura, um patamar entre 80 e 130 mL.min.<sup>-1</sup>, contudo, empregou-se a vazão intermediária de 96 mL.min.<sup>-1</sup> para as análises, em razão das oscilações do gás, decorrente da entrada da amostra no separador gás-líquido, serem menores nesta condição, deste modo evitando prováveis interferências na quantificação do analito.

O tempo de exposição da amostra à radiação UV foi avaliado por meio da vazão desta através do percurso analítico. Nota-se, pela Figura 6, um decaimento linear do sinal de absorvância integrada com o incremento da vazão, uma vez que esta é inversamente proporcional ao tempo de irradiação da amostra, ou seja, com este aumento se diminui o tempo de radiação incidente sobre essa. Observa-se um maior sinal quando a vazão é de 1,0 mL.min.<sup>-1</sup>, entretanto se aplicou a vazão de 2,9 mL.min.<sup>-1</sup>, visto que nesta condição ocorre a diminuição do tempo de análise (aumentando a frequência analítica) e uma diminuição de apenas 4% do sinal. Ao empregar esta vazão o tempo de exposição da amostra à radiação ficou em torno de 16 segundos.

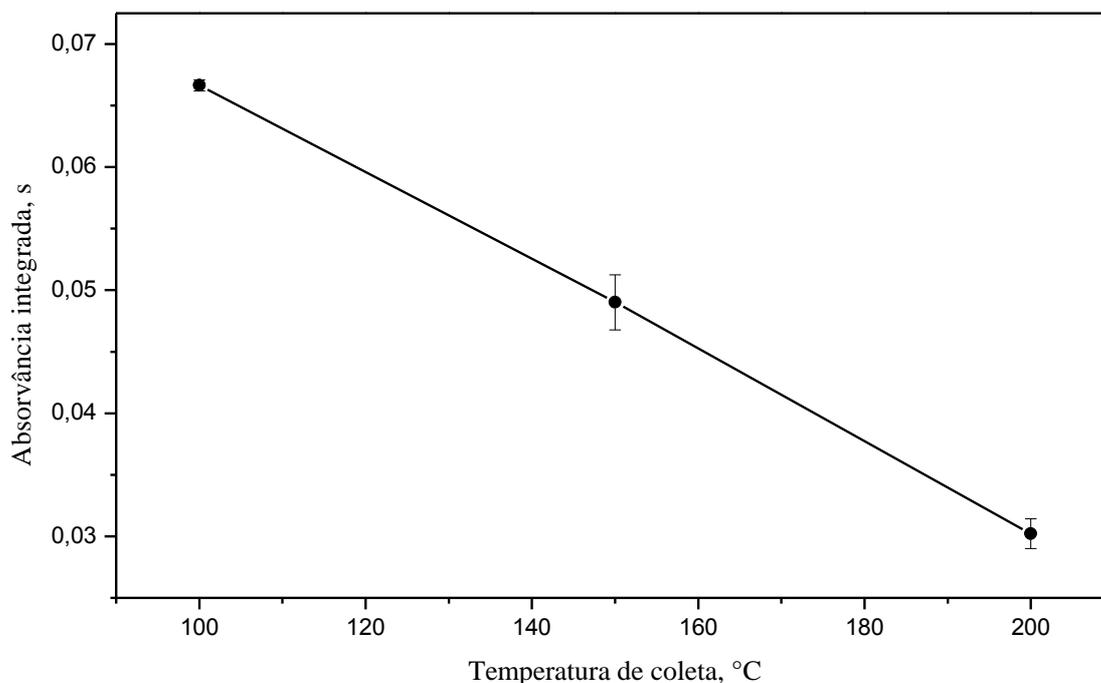
Figura 6 - Estudo de otimização da vazão de amostra na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL<sup>-1</sup> de Hg (T<sub>a</sub>= 600 °C).



A otimização da temperatura de coleta foi realizada sendo constatado o decréscimo do sinal com o aumento da temperatura conforme apresentado na Figura 7. O intervalo estudado se encontrava entre 100 °C e 200 °C, uma vez que o equipamento empregado para as análises não possibilitava temperaturas abaixo da mínima do intervalo avaliado, quando iniciada a medida. O considerável decréscimo do sinal ocorre em virtude da diminuição da sorção

(amalgamação) do analito ocasionada pelo aumento da temperatura. Logo a temperatura ótima consistia em 100 °C, sendo assim empregada nas demais análises.

Figura 7 - Estudo de otimização da temperatura de coleta das espécies voláteis do analito na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL<sup>-1</sup> de Hg (T<sub>a</sub>= 700 °C).



Na Figura 8 está apresentado o estudo de otimização da temperatura de atomização para a determinação de Hg por PVG-AAS. Constata-se um decaimento aparentemente exponencial com o incremento da temperatura, sendo o maior valor do sinal de absorvância integrada para 500 °C. Este decaimento pode ser explicado em consequência da expansão brusca da nuvem atômica do analito, o que provavelmente encurta o tempo de residência deste no volume de absorção (ou de observação) ao aplicar altas temperaturas, deste modo interferindo negativamente na mensuração e havendo um decréscimo do sinal como resultado.

Entretanto, a atomização do analito não é uniforme na temperatura de maior sinal (500 °C), sendo necessário um maior tempo de integração (vide Figura 9.a). Deste modo, aplicou-se 600 °C nas demais análises garantindo a atomização completa do analito (vide Figura 9.b) em um menor tempo de integração (4 s, conforme a Tabela 3), o que aumenta a razão sinal-ruído melhorando os LOD e LOQ, além da apreciável melhora nas precisões e consequente diminuição do tempo de análise.<sup>19</sup>

Figura 8 - Estudo de otimização da temperatura de atomização na determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor: ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  de Hg.

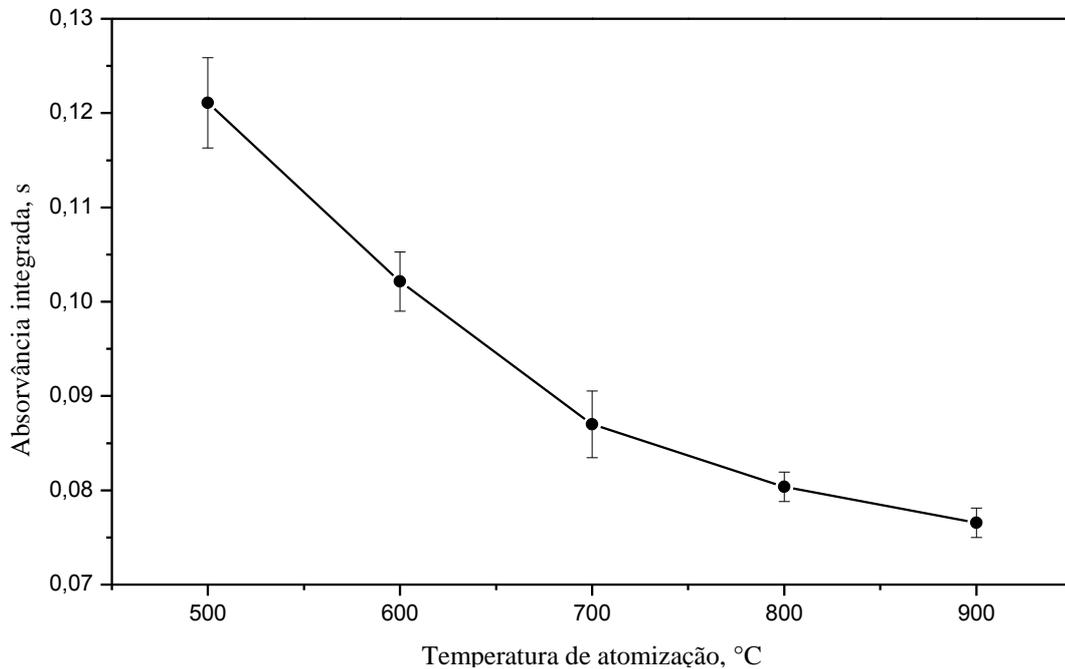
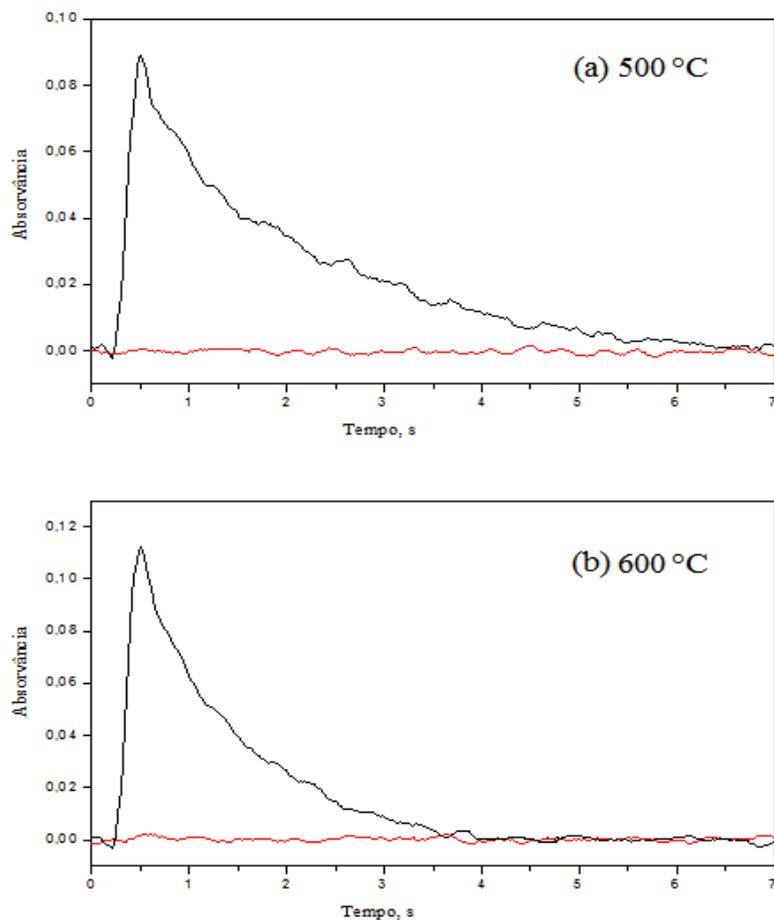
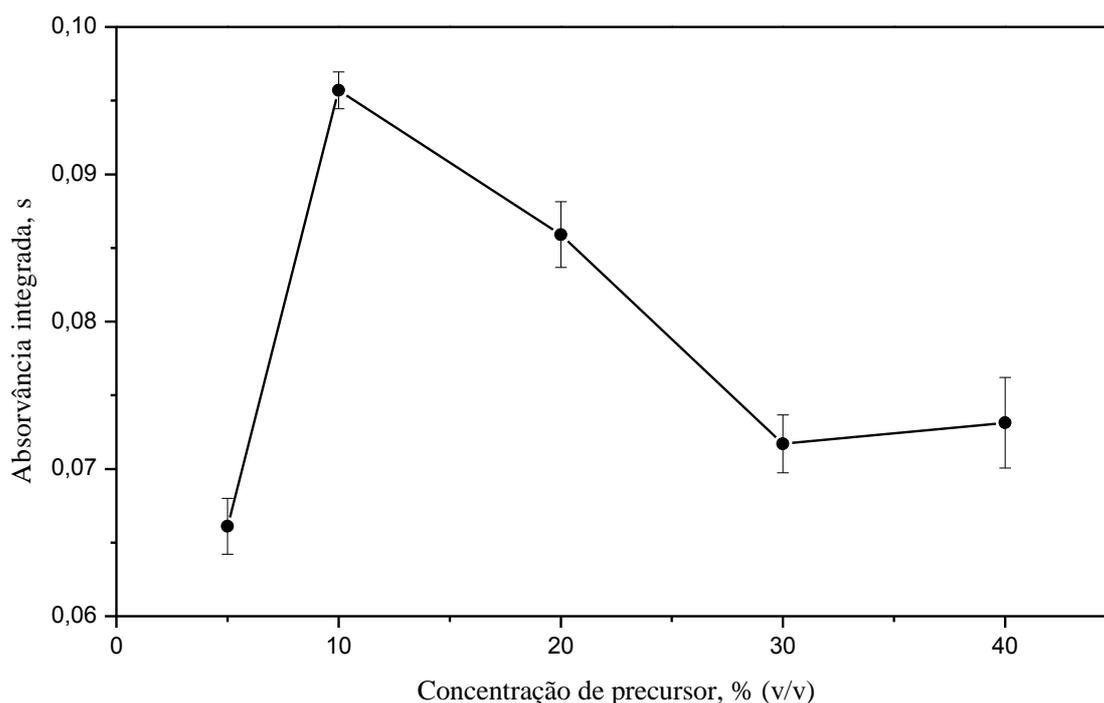


Figura 9 - Sinais de absorvância para diferentes temperaturas de atomização: (a) 500 °C e (b) 600 °C. Solução-padrão de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  de Hg, precursor: ácido fórmico (10% v/v). Correção do sinal de fundo (*background*) em vermelho (linha de base).



Outro parâmetro avaliado foi a concentração de precursor (ácido fórmico), sendo o estudo mostrado na Figura 10. O intervalo de concentração estudado foi de 5% a 40% (v/v) de ácido fórmico, estando na concentração de 10% o maior sinal de absorvância integrada, sendo esta a concentração empregada nas demais análises, em razão disto e das melhores precisões.

Figura 10 - Estudo de otimização da concentração de precursor para a determinação de Hg por PVG-GF AAS. Precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng/mL de Hg ( $T_a = 700\text{ }^\circ\text{C}$ ).



Na Tabela 5 estão expostos os valores dos parâmetros otimizados (com ácido fórmico como precursor) e que foram empregados para a construção das curvas analíticas e para a determinação de mercúrio total em amostras de alimentos (seção 4.4) utilizando a PVG.

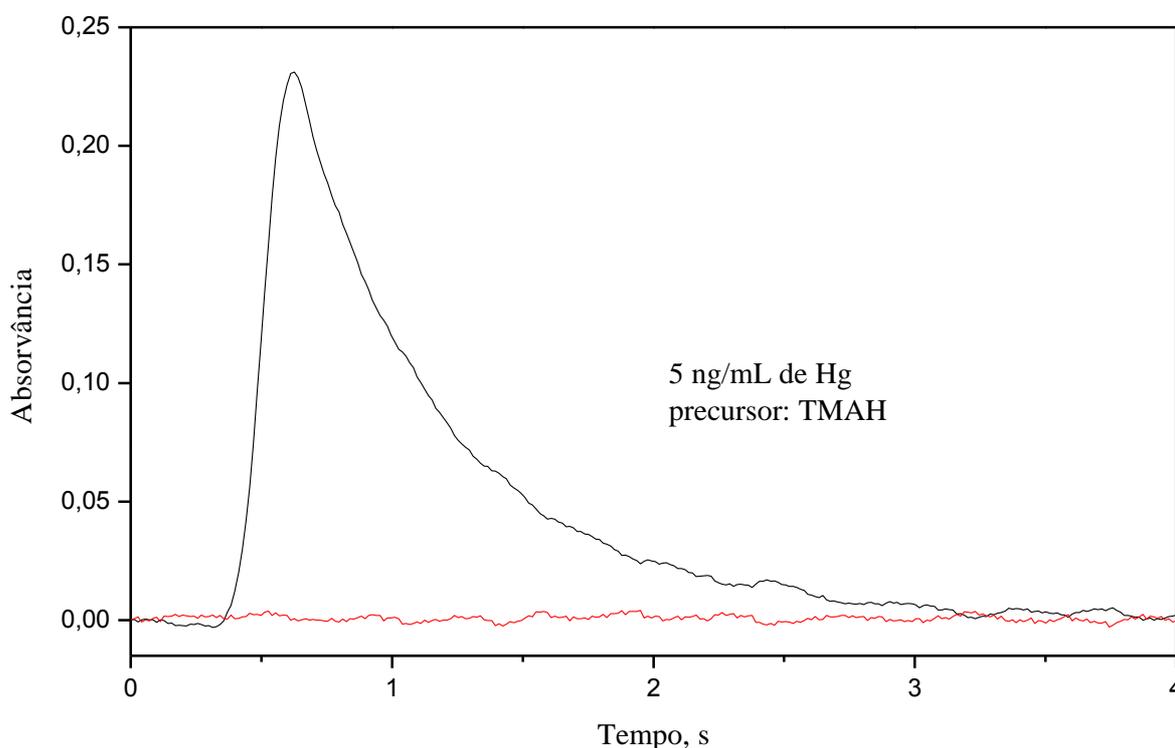
Tabela 5 - Valores dos parâmetros otimizados para a determinação de Hg total por PVG-AAS. Precursor: ácido fórmico.

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores otimizados</b>
<i>Temperatura de atomização</i>	600 °C
<i>Temperatura de coleta</i>	100 °C
<i>Concentração de precursor</i>	10% (v/v)
<i>Vazão de gás de arraste</i>	96 mL.min. <sup>-1</sup>
<i>Vazão de amostra</i>	2,9 mL.min. <sup>-1</sup> *

\*Tempo de exposição da amostra a radiação: 16 s

As mesmas condições otimizadas para o ácido fórmico foram aplicadas para os demais precursores. Na Figura 11 é mostrado o perfil típico do sinal de absorvância obtido para a solução de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  de Hg sendo TMAH o precursor (sinal este comparável com o da Figura 9.b). Observa-se, por esta figura, a ausência de sinal de fundo (*background*) quando empregada a PVG como técnica de inserção de amostra.

Figura 11 - Perfil de absorvância de uma solução de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  com TMAH como precursor (10% v/v). Correção do sinal de fundo (*background*) em vermelho (linha de base).  $T_a = 600 \text{ }^\circ\text{C}$ ..



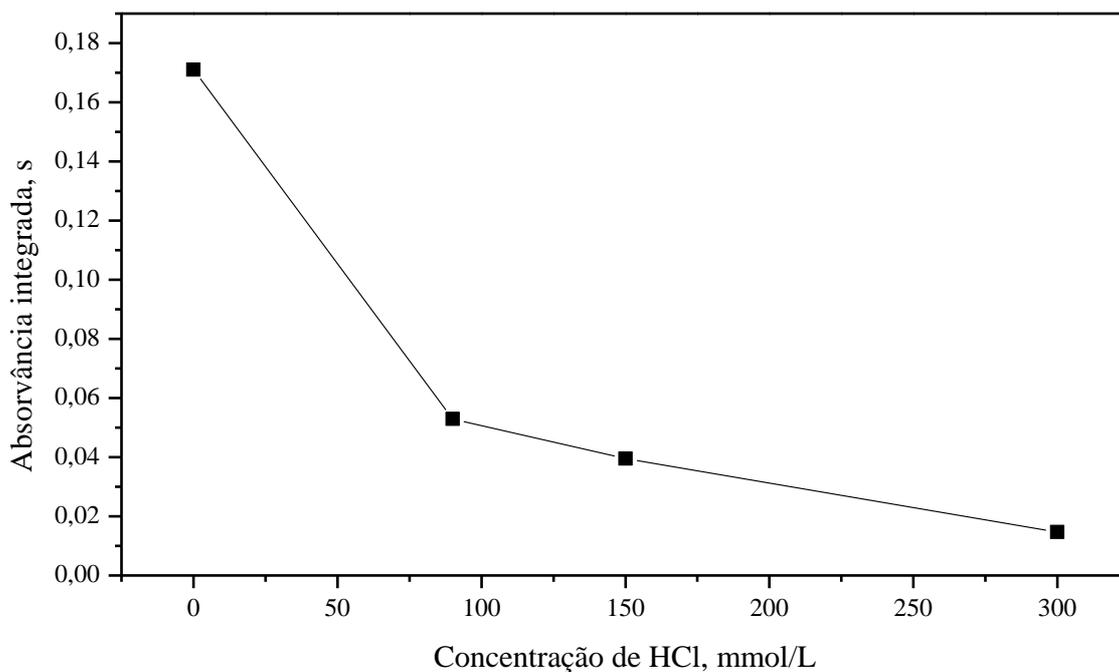
Outra observação que deve ser mencionada é a etapa de pirólise ser dispensável, visto que o tubo de grafite não entra em contato com a matriz da amostra, uma vez que a PVG é uma técnica de introdução a qual separa previamente o analito da matriz. Em consequência disto, verifica-se um aumento da durabilidade do tubo de grafite como será abordado na próxima seção.

## 5.2. Estudo de interferência por cloretos

Uma desvantagem muito discutida quanto ao emprego da PVG como técnica de inserção de amostra consiste no uso de ácidos inorgânicos como o HCl no tratamento de amostra para a determinação de mercúrio, uma vez que na presença de seus ânions ocorre a formação de complexos do analito, o que interfere na geração das espécies voláteis deste,

como é sugerido por alguns autores.<sup>43, 44, 46</sup> Este é mais um estudo realizado para corroborar com esta hipótese, visto o aparente decaimento exponencial observado para o sinal de absorvância integrada em função do aumento da concentração de HCl conforme a Figura 12.

Figura 12 - Estudo de interferência do HCl, tendo como precursor ácido fórmico (10% v/v). Solução-padrão de 5 ng.mL<sup>-1</sup> de Hg. (T<sub>a</sub>= 600 °C).



Em consequência disto, buscou-se avaliar dissoluções da amostra com TMAH (uma conhecida base orgânica forte), com ácido fórmico (o mais simples ácido orgânico de baixo peso molecular) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, um conhecido agente oxidante. A escolha destes reagentes ocorreu em razão dos dois primeiros atuarem como precursores para a formação das espécies voláteis do analito na presença de radiação UV; e o último em virtude do seu elevado poder oxidante na quebra da matéria orgânica ocasionada pela formação de radicais hidroxilas no meio reacional. Avaliou-se a possibilidade de análise direta da amostra solubilizada, mediante a introdução desta no reator fotoquímico, uma vez que o tratamento com radiação UV é uma forma simples e limpa de tratamento da amostra.<sup>44, 45</sup>

### 5.3. Curvas de calibração externa e parâmetros de mérito

Sabendo-se que a espectrometria de absorção atômica não é uma técnica absoluta<sup>19</sup>, foram construídas curvas de calibração externa para diferentes precursores, empregando as condições otimizadas obtidas anteriormente. Nas Figuras 13, 14, 15 e 16 estão apresentados os perfis destas curvas demonstrando, assim, a sua linearidade conforme a lei de Lambert-Beer ( $A_{int} \propto m$ ). As precisões obtidas ( $n=3$ ), para cada ponto das curvas, foram avaliadas por meio do RSD, o qual se encontrava abaixo de 5% para todos os precursores empregados.

Destaca-se aqui que o emprego de  $H_2O_2$  em conjunto com ácido fórmico foi o que apresentou a melhor sensibilidade como é constatado na Figura 13. A razão para isto será descrita na seção 5.4.

Figura 13 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando ácido fórmico (10% v/v) como precursor e  $1,5 \text{ mol.L}^{-1}$  de  $H_2O_2$  ( $n=3$ , para cada ponto), sendo  $A_{int}$  o valor de absorvância integrada em  $s$ ; e  $m$  a massa do analito em  $ng$ .

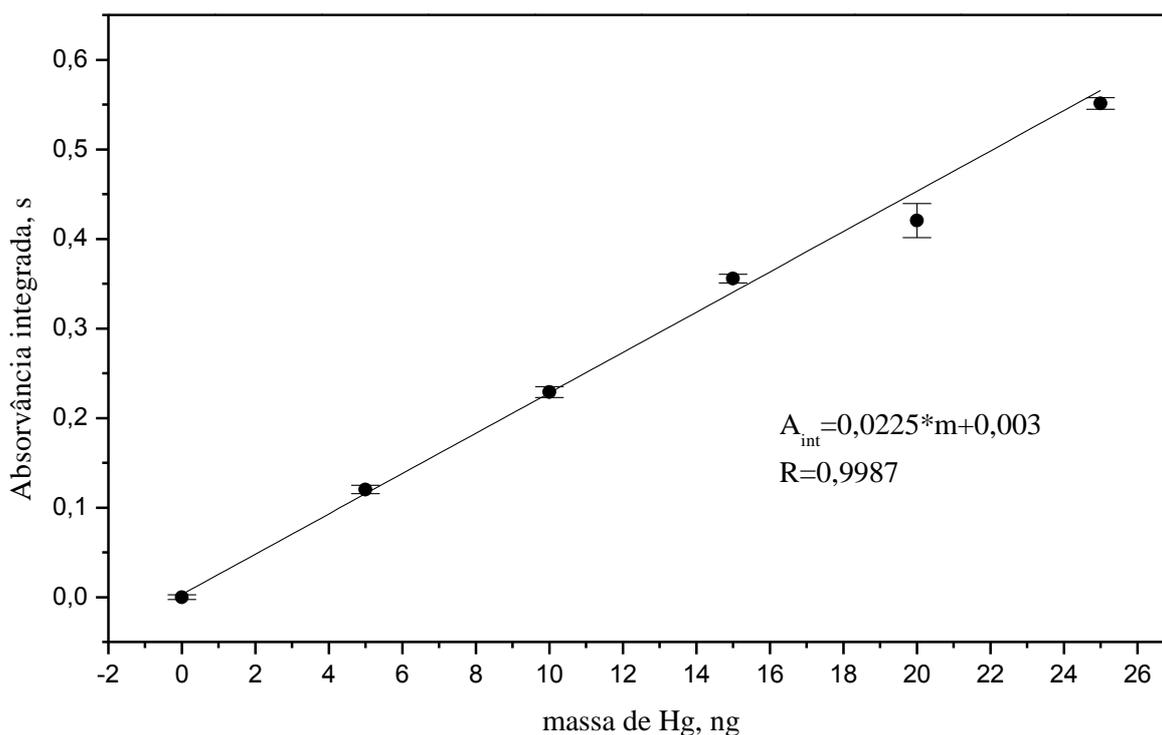


Figura 14 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando TMAH (10% v/v) como precursor ( $n=3$ , para cada ponto), sendo  $A_{int}$  o valor de absorvância integrada em  $s$ ; e  $m$  a massa do analito em  $ng$ .

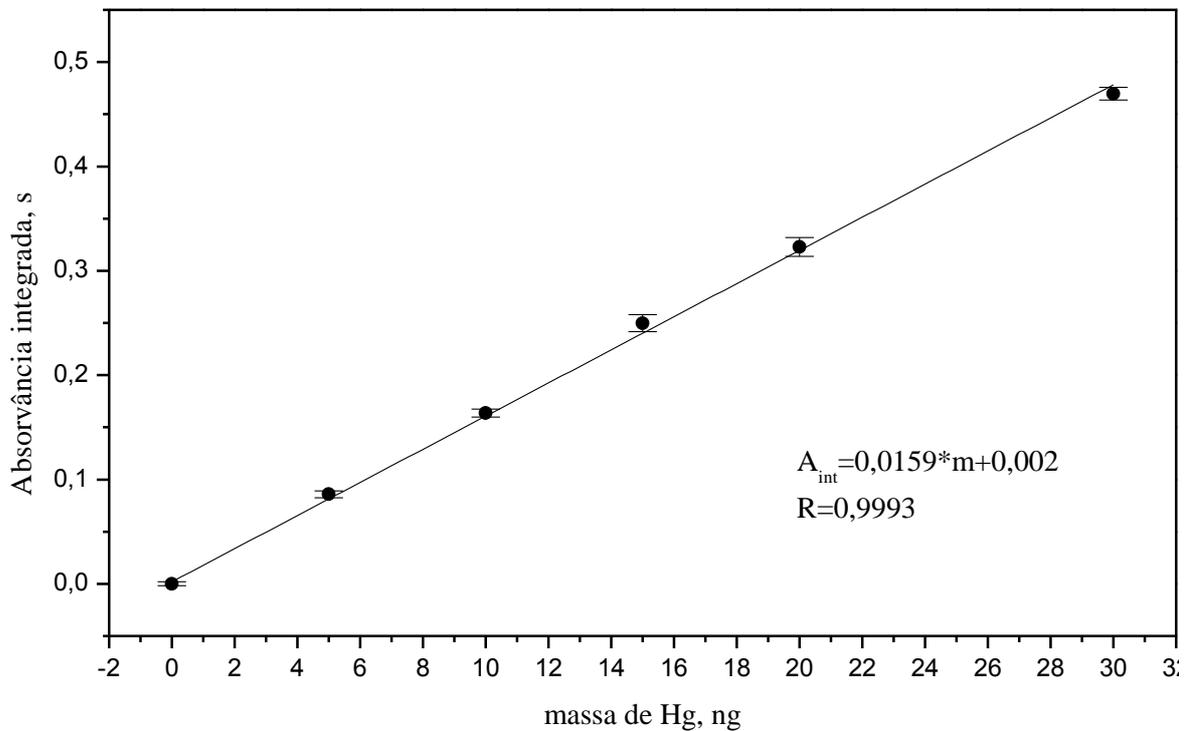


Figura 15 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando propanol (10% v/v) como precursor ( $n=3$ , para cada ponto), sendo  $A_{int}$  o valor de absorvância integrada em  $s$ ; e  $m$  a massa do analito em  $ng$ .

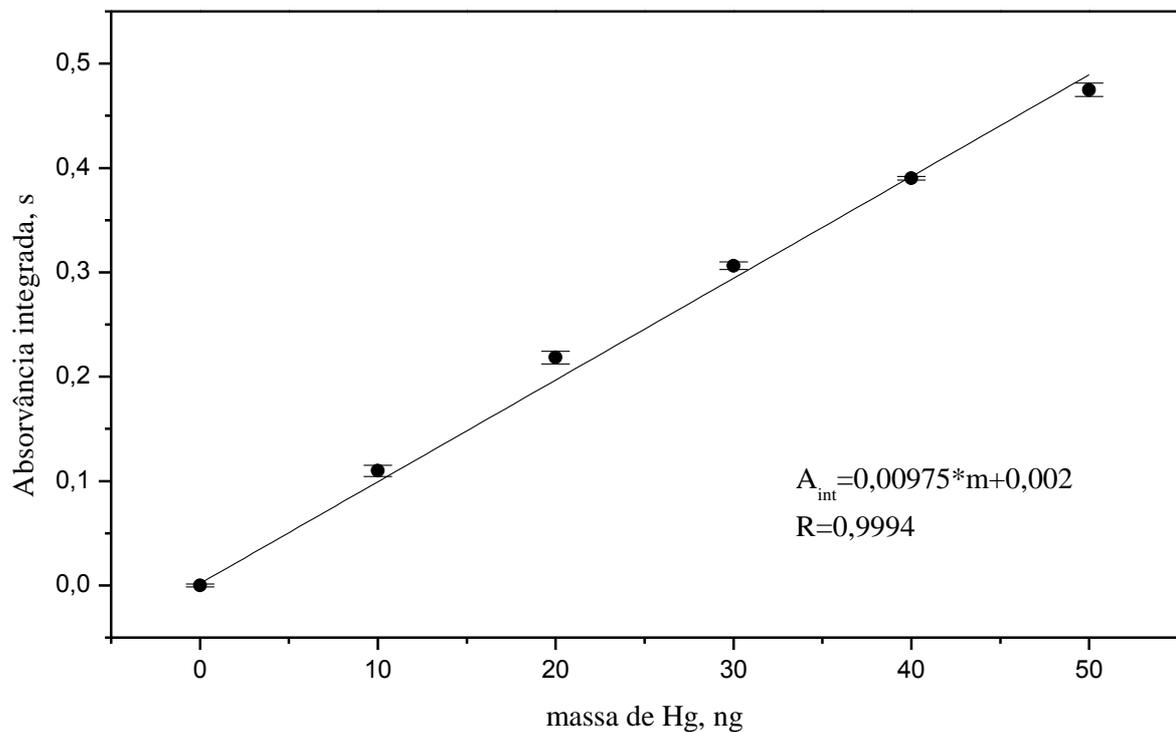
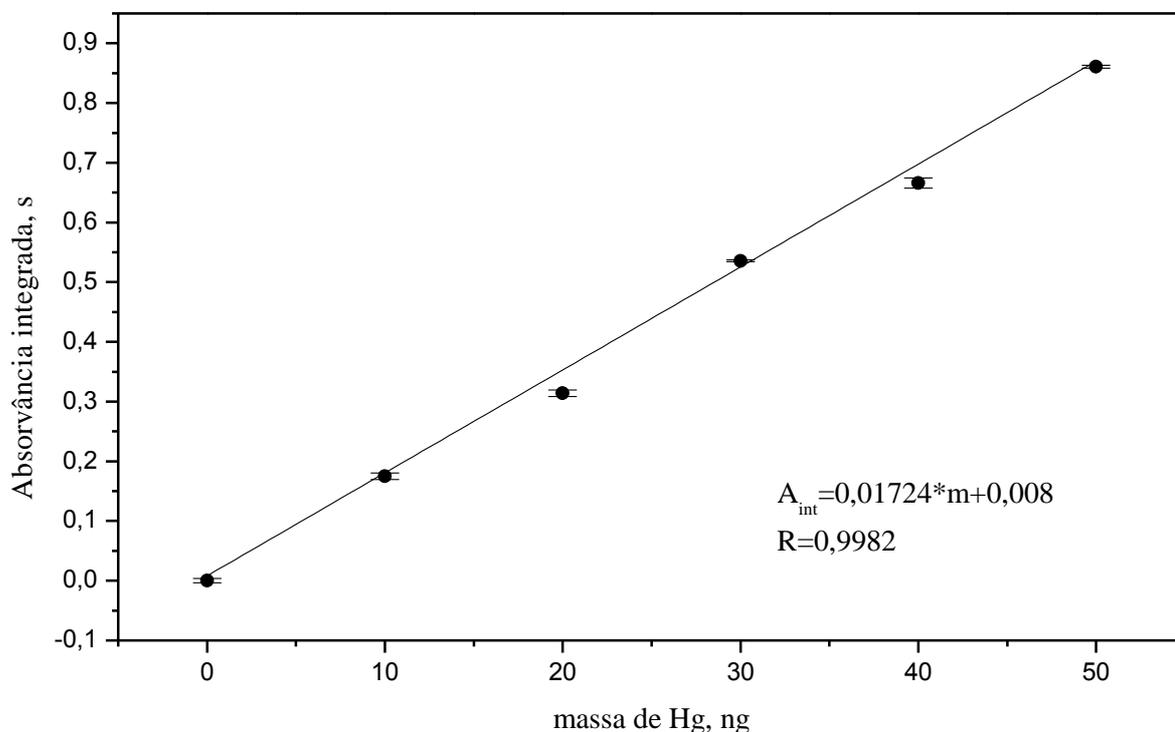


Figura 16 - Curva de calibração externa para a determinação de mercúrio pela PVG-GF AAS, empregando ácido fórmico (10% v/v) como precursor (n=3, para cada ponto), sendo  $A_{int}$  o valor de absorvância integrada em s; e  $m$  a massa do analito em ng.



A Tabela 6 sumariza os parâmetros de mérito obtidos para diferentes precursores. Nota-se que foram obtidos os melhores parâmetros de mérito para o ácido fórmico com  $H_2O_2$ , uma vez que na presença deste houve um incremento no sinal de absorvância integrada como será abordado na próxima seção.

Tabela 6 - Parâmetros de mérito para determinação de Hg por PVG-GF AAS. (Prop.: propanol; AF: ácido fórmico; TMAH: hidróxido de tetrametilamônio)

Parâmetro	AF+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	TMAH	PROP.	AF
Sensibilidade, s/ng (m)	0,0225	0,0157	0,0098	0,01724
Coefficiente de correlação (R)	0,9987	0,9993	0,9994	0,9982
LOD, ng	0,36	0,98	0,49	0,65
LOQ, ng	1,19	3,27	1,63	2,16
Massa característica, ng	0,19	0,27	0,40	0,24

Os LOD's e LOQ's obtidos ao empregar diferentes precursores estão todos abaixo dos teores previstos pela legislação vigente, o que demonstra que a técnica é adequada para a determinação de Hg em amostras de alimentos.

Uma importante observação que deve ser realizada é que, até o momento, não há relatos na literatura quanto ao emprego de  $H_2O_2$  em conjunto com ácido fórmico para a determinação de Hg por PVG-AAS, ademais, destacando a massa característica obtida de 190 pg, a qual é comparável com dados da literatura (160 pg).<sup>27</sup>

Constatou-se que a permanência do modificador químico no tubo de grafite era dependente do precursor empregado, sendo que a diminuição do sinal analítico ocorria após 70 ciclos de atomização quando empregado TMAH como precursor, e 100 ciclos quando empregado ácido fórmico. Tal comportamento ocorre em razão da provável formação de vapor de TMAH o qual pode estar degradando o modificador químico (Au).

A vida útil do tubo de grafite foi avaliada por meio do formato do sinal transiente (simetria deste), das precisões apresentadas nas mensurações e do aspecto do tubo de grafite (por inspeção). No período deste estudo, não houve mudanças significativas destes parâmetros, alcançando até o momento 1015 queimas, visto que as temperaturas empregadas foram relativamente brandas (vide Tabelas 3 e 4).

#### **5.4. Recuperações e estudo com $H_2O_2$**

Para avaliar a exatidão do método, testes de recuperação foram realizados uma vez que os teores de mercúrio nas amostras analisadas se encontravam abaixo dos LODs para todos os precursores avaliados. As recuperações foram calculadas segundo o equação 9 descrita na seção 4.5.

Na Tabela 7 estão apresentadas as recuperações obtidas empregando diferentes métodos de preparo para as amostras fortificadas com o analito. A escolha do preparo consistia na inspeção da amostra que se mostrava mais solubilizada para que não houvesse interferência ante a passagem desta no interior do reator fotoquímico. Todas as mensurações foram realizadas em triplicatas.

Tabela 7 - Recuperações obtidas para diferentes métodos de preparo. (A: papinha baseada em carne bovina, B: papinha baseada em carne de peixe; C: fórmula infantil)\*

Amostra	Precursor	Solub.	Volume, mL prec:Sol.	Tempo no banho, min.(70 °C)	Tempo de sonicação, min.	Recup.**,%
A	TMAH	TMAH	0:1	40	0	<b>98±2</b>
A	AF	AF	0:1	180	0	<b>145±12</b>
B	TMAH	TMAH	0:1	40	0	<b>99±9</b>
C	TMAH	TMAH	0:1	40	0	***
C	PROP.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1:1	40	0	<b>33±20</b>
C	PROP.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1:3	40	15	<b>67±10</b>
C	PROP.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1:3	40	40	<b>65±15</b>
C	AF	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1:1	40	15	<b>77±2</b>
C	AF+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	AF	(0+1):1	40	15	<b>75±1</b>
C	AF	AF	0:2	180	0	<b>106±2</b>

\* Massa de amostra: A=B=350 mg, C=150 mg ; \*\*5 ng.mL<sup>-1</sup> de Hg (spike);\*\*\*resultados não reprodutíveis.(n=3)

Os testes de recuperação foram realizados com diferentes precursores orgânicos, são eles: hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), ácido fórmico (AF) e propanol (PROP.). Estudou-se também o emprego de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) não como precursor, mas para a dissolução da amostra. Este, quando empregado em conjunto com propanol, não se mostrou como um interferente ante ao sinal obtido, contudo quando aplicado em conjunto com ácido fórmico apresentou um expressivo aumento do sinal analítico, como será abordado posteriormente.

Quanto às recuperações, observou-se que o tratamento da amostra de alimento de transição baseado em carne bovina (A) com TMAH (primeiro ensaio), obteve-se um resultado coerente com o esperado, demonstrando a capacidade deste em solubilizar adequadamente amostras orgânicas.<sup>44</sup> Mediante este último resultado, empregou-se o tratamento com TMAH para o preparo do alimento de transição baseado em carne de peixe (B), obtendo-se novamente resultados satisfatórios (Tabela 7). Contudo ao aplicar este tratamento na amostra

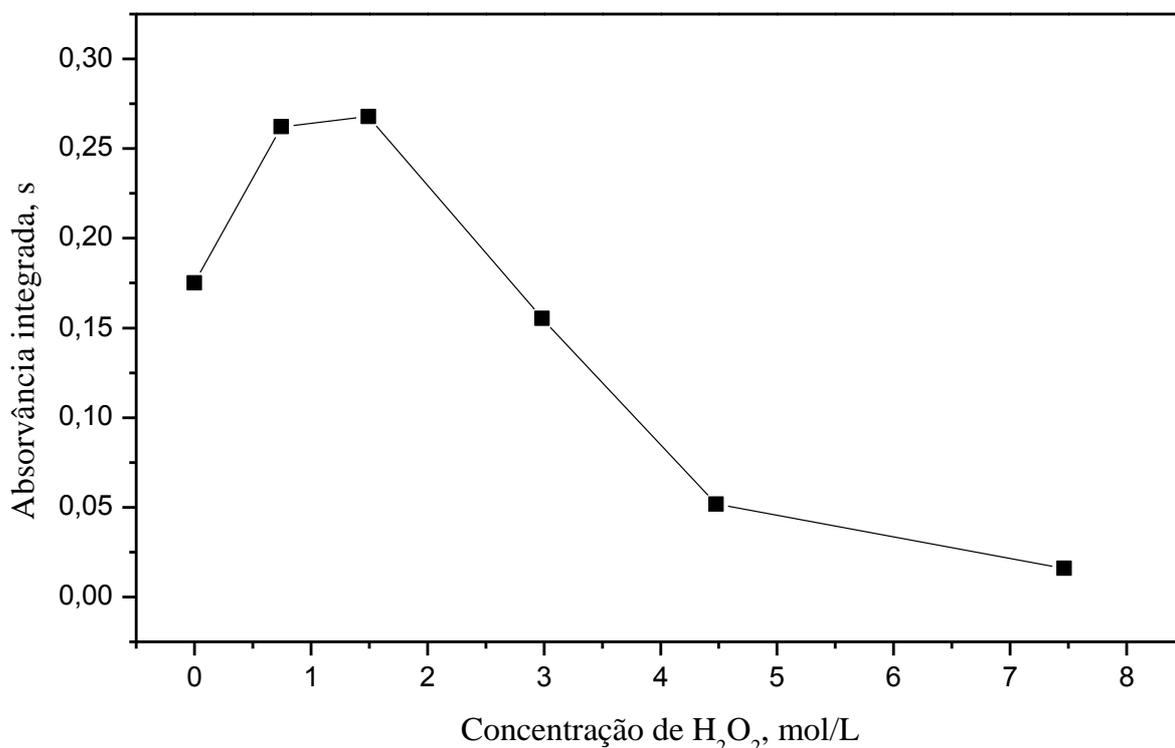
de fórmula infantil (C) os resultados obtidos não foram reprodutíveis, provavelmente, em virtude da coloração da amostra solubilizada ser muito escuras (provável carbonização desta), o que impede a passagem da radiação UV através da mesma, impossibilitando a geração dos radicais necessários para a fotorredução do analito.

Avaliando alternativas ao TMAH e visando aumentar a eficiência da quebra de matéria orgânica da fórmula infantil (C), aplicou-se o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) como agente oxidante com diferentes precursores (AF, propanol), em virtude da sua inabilidade de gerar espécies voláteis do analito. Utilizando este na amostra, com propanol como precursor, obteve-se uma recuperação insatisfatória, como pode ser observado na Tabela 7. Triplicando a quantidade de  $H_2O_2$ , observou-se um acréscimo expressivo na recuperação do analito, contudo ainda insatisfatório, como pode ser observado pela baixa recuperação obtida. Estes resultados podem estar relacionados ao tamanho de partícula, uma vez que esta mistura (PROP./ $H_2O_2$ ), formava uma suspensão, não solubilizando completamente a amostra.

Outro estudo foi realizado utilizando ácido fórmico (AF) como precursor e  $H_2O_2$ , apresentando melhores recuperações se comparado com o propanol (suspensão com tamanho de partícula muito pequeno), além do incremento considerável do sinal analítico. No oitavo caso, aplicou-se o  $H_2O_2$  como solubilizador da amostra, enquanto que no nono, este reagente foi aplicado no momento da aferição, apresentando os mesmos resultados, ainda assim, com recuperação abaixo da satisfatória. Em razão disto, um estudo de otimização, utilizando uma solução padrão de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$ , foi feito para avaliar a quantidade adequada de peróxido a ser empregada com ácido fórmico. O intervalo estudado se encontrava entre 0 e  $7,5 \text{ mol.L}^{-1}$  de  $H_2O_2$ . Pela Figura 17, são apresentados os resultados deste estudo, é possível observar um aumento do sinal de absorvância integrada alcançando um máximo em  $1,5 \text{ mol.L}^{-1}$  de  $H_2O_2$  para a solução-padrão. A presença de  $H_2O_2$  auxilia a fotodecomposição do ácido fórmico, aumentando a concentração de radicais hidroxilas ( $\cdot\text{OH}$ ) no meio reacional<sup>30, 48</sup>, o que provavelmente favorece a formação das espécies voláteis do analito.

Mesmo apresentando os melhores parâmetros de mérito, o emprego do ácido fórmico em conjunto com  $H_2O_2$  não se mostrou adequado, em razão do  $H_2O_2$  ser, provavelmente, consumido pela dissolução da matriz da amostra, diminuindo a sua concentração no meio, conseqüentemente, afastando-se da condição otimizada (vide Figura 17).

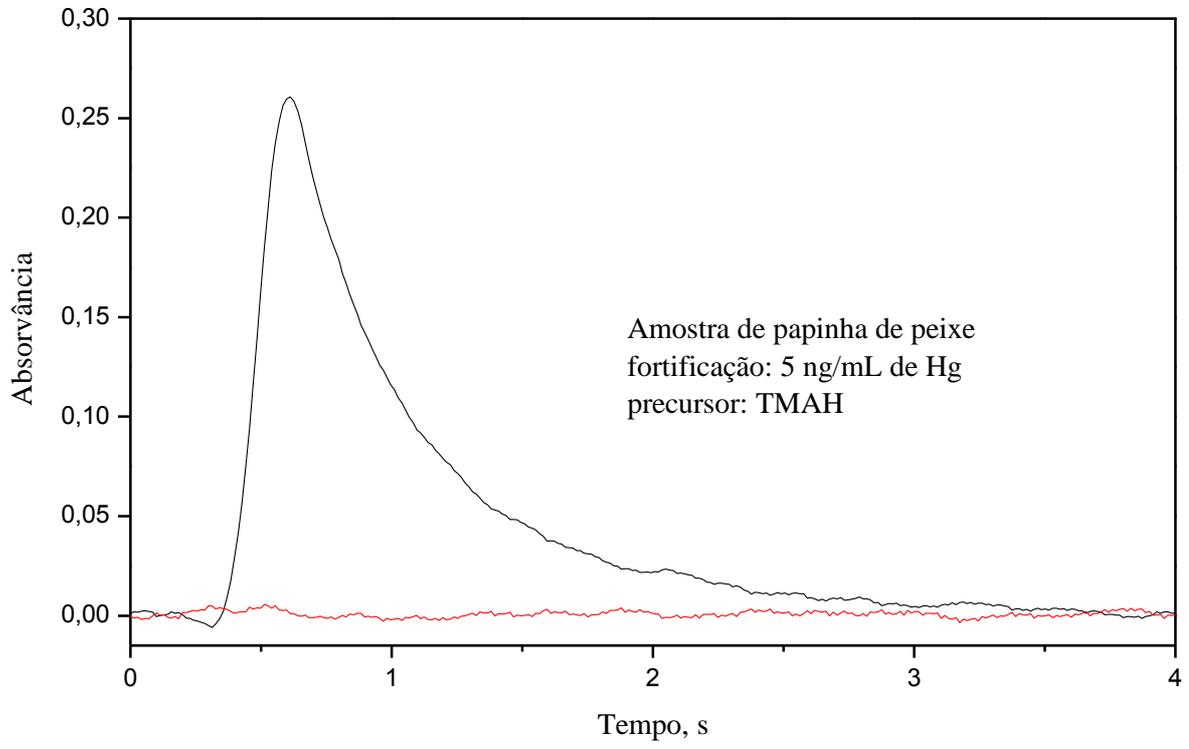
Figura 17 - Estudo de otimização da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para a determinação de Hg. Solução-padrão de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  de Hg analisada. Precursor: ácido fórmico 10% (v/v)



Finalmente, empregando um tratamento apenas com ácido fórmico durante 3h, sob aquecimento, observou-se uma recuperação satisfatória (tamanho de partícula imperceptível, por inspeção) para a amostra de fórmula infantil (C). Mediante este resultado, aplicou-se este mesmo tratamento para a amostra A (segundo ensaio), entretanto a recuperação obtida foi acima da esperada indicando uma interferência de matriz de forma a aumentar a eficiência na geração. Assim, até o momento, constata-se a necessidade de dois tratamentos de amostra diferentes, um com TMAH (papinha, A e B) e outro com AF (fórmula infantil, C);

Na Figura 18 está apresentado o perfil do sinal de absorvância em função do tempo para a amostra fortificada de papinha de peixe (*spike*) por meio da dissolução com TMAH (terceiro caso da Tabela 7). Esta figura ilustra o sinal normalmente obtido, quando empregado a PVG-GF AAS como método para a mensuração de mercúrio nas demais amostras fortificadas e diferentes precursores. Nota-se a ausência de sinal de fundo (*background*), uma vez que o analito é separado de sua matriz.

Figura 18 - Perfil de absorvância da amostra de papinha baseada em carne de peixe fortificada com  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  de Hg (*spike*). Precursor: TMAH (10% v/v). Correção do sinal de fundo (*background*) em vermelho (linha de base)



## 6. CONCLUSÃO

A geração fotoquímica de vapor (PVG), uma técnica relativamente recente de inserção de amostra, foi apresentada neste estudo e aplicada para a determinação de mercúrio em amostras de fórmula infantil e alimentos de transição. Empregou-se a espectrometria de absorção atômica como técnica de detecção, sendo a pré-concentração e a atomização realizada em um tubo de grafite (PVG-GF AAS) com aquecimento transversal sem plataforma L'vov, aplicando Au como modificador químico permanente. Destaca-se aqui que sem este recobrimento não houve sinal do analito para uma solução-padrão.

Os melhores parâmetros de mérito foram obtidos com ácido fórmico em conjunto com  $H_2O_2$ , o qual incrementa a eficiência de geração constatada mediante o aumento do sinal analítico, contudo as recuperações obtidas empregando esta mistura não foram satisfatórias uma vez que o  $H_2O_2$  é, provavelmente, consumido pela dissolução da amostra. Mesmo ocorrendo isto, o emprego do  $H_2O_2$  é altamente recomendável para a determinação de Hg em amostras simples como, por exemplo, em amostras de efluentes.

Até o momento, dois tratamentos de amostras foram necessário para as amostras de alimento analisadas, um com hidróxido de tetrametilamônio (alimentos de transição) e outro com ácido fórmico (fórmulas infantis), sendo este fato constatado mediante testes de recuperação, uma vez que as amostras analisadas apresentaram teores de Hg abaixo dos LODs para todos os precursores empregados, além de não haver materiais de referência certificados que contenham este analito para esta classe de alimentos.

Constatou-se uma longa vida útil do tubo de grafite (mais de 1000 queimas), sendo a permanência do modificador químico dependente do precursor empregado, uma vez que este modificador se perde após 70 ciclos de atomização quando aplicado TMAH como precursor, e 100 ciclos quando aplicado ácido fórmico.

Os LOD's e LOQ's obtidos ao empregar diferentes precursores estão todos abaixo dos teores previstos pela legislação vigente, o que demonstra que a técnica é adequada para a determinação de Hg em amostras de alimentos.

Etapas futuras para a continuidade deste trabalho consistiriam em:

- Estudo de massa de amostra;
- Estudo da influência do  $H_2O_2$  no preparo da amostra;
- Emprego da PVG-GF AAS para a determinação de outros elementos formadores de hidretos voláteis em alimentos e fórmulas infantis, tais como: As, Cd, Se e Sb.

## 7. REFERÊNCIAS

- 1) CASTILHO, S. D.; BARROS FILHO, A. A. The history of infant nutrition. **Jornal de pediatria**, v. 86, n. 3, p. 179–188, 2010.
- 2) ALLES, M. S.; SCHOLTENS, P. A M. J.; BINDELS, J. G. Current trends in the composition of infant milk formulas. **Current Paediatrics**, v. 14, p. 51–63, 2004.
- 3) WELLS, J. C. K. Nutritional considerations in infant formula design. **Seminars in Neonatology**, v. 1, p. 19–26, 1996.
- 4) CARVALHO, L. E. R. DE; DIAS, M. **Identidade e Legislação de Alimentos Infantis**. Disponível em: <<http://www.aleitamento.com/amamentacao/conteudo.asp?cod=1531>>. Acesso em: 29 set. 2015.
- 5) MACLEAN, W. C. et al. Upper levels of nutrients in infant formulas: Comparison of analytical data with the revised Codex infant formula standard. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 1, p. 44–53, 2010.
- 6) MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Decreto nº 55.871 (do Poder Executivo)** - Brasil; D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, , 1965.
- 7) MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA N° 685, DE 27 DE AGOSTO DE 1998**- Brasil; D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, , 1998.
- 8) ANVISA. **Regulamentos Técnicos**. Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/yAF>>. Acesso em: 29 set. 2015.
- 9) MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Lei nº 11.265: Regulamenta a comercialização de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância e também a de produtos de puericultura correlatos.**- Brasil; D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, , 2006. Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Lei/L11265.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11265.htm)>. Acesso em: 18 out. 2015
- 10) ANVISA. **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO\\_18\\_1999.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 21 out. 2015.
- 11) ANVISA. **Alimentos com alegações de propriedade funcional aprovadas**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude/Alegacoes+de+propriedade+funcional+aprovadas>>. Acesso em: 21 out. 2015.
- 12) ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 54**- Brasil; D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, , 2012.
- 13) ANVISA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 222, DE 05 DE AGOSTO DE 2002**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c81a6d0047457a8e8744d73fbc4c6735/RDC\\_222.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c81a6d0047457a8e8744d73fbc4c6735/RDC_222.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 29 set. 2015.
- 14) FERREIRA, S. L. C. et al. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices — A review. **Microchemical Journal**, v. 121, p. 227–236, 2015.

- 15) BERLIN, M.; ZALUPS, R. K.; FOWLER, B. A. Mercury. In: GUNNAR F. NORDBERG, BRUCE A. FOWLER, M. N. AND L. T. F. (Ed.). **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3. ed. London, UK: Elsevier, 2007. p. 675–729.
- 16) BERNHOFT, R. A. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. **Journal of environmental and public health**, v. 2012, p. 460508, 2012.
- 17) GAO, Y. et al. Determination and speciation of mercury in environmental and biological samples by analytical atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 103, p. 1–14, 2012.
- 18) YANG, L.; ZHANG, D.; ZHOU, Q. Determination of Mercury in Biological Tissues by Graphite-furnace Atomic Absorption Spectrometry with an in-situ Concentration Technique. **Analytical Sciences**, v. 18, n. 7, p. 811–814, 2002.
- 19) WELZ, B.; SPERLING, M.; RESANO, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3. ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, 1998.
- 20) BOSE-O'REILLY, S. et al. Mercury exposure and children's health. **Current problems in pediatric and adolescent health care**, v. 40, n. 8, p. 186–215, set. 2010.
- 21) WHO. **Trace elements in human nutrition and health**. [s.l.] World Health Organization, 1996.
- 22) LISBOA, M. T. et al. Comparison between Vapor Generation Methods Coupled to Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Hg in Glycerin Samples. **Energy & Fuels**, v. 29, p. 1635–1640, 2015.
- 23) SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013.
- 24) LEERMAKERS, M. et al. Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 383–393, 2005.
- 25) NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M. **Handbook of The Toxicology of Metal**. Elsevier; ed. London, UK: Elsevier, 2009.
- 26) WALSH, A. Atomic absorption spectroscopy. Stagnant or pregnant. **Analytical Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 698A–708a, jul. 1974.
- 27) WELZ, B. et al. **High-Resolution Continuum Source AAS**. 1. ed. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005.
- 28) L'VOV, B. V. Fifty years of atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 382, 2005
- 29) SKOOG, D. et al. **Principles of Instrumental Analysis**. 5. ed. Philadelphia: Brooks/Cole Pub Co, 1998.
- 30) WU, P. et al. Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 1217, 2010.
- 31) GAO, Y.; LIU, R.; YANG, L. Application of chemical vapor generation in ICP-MS: A review. **Chinese Science Bulletin**, v. 58, n. 17, p. 1980–1991, 2013.
- 32) TAKASE, I. et al. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1132–1144, 2002.

- 33) GUO, X. et al. UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 75, n. 9, p. 2092–9, 2003.
- 34) CHANG, C.-C.; JIANG, S.-J. Determination of Hg and Bi by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry using vapor generation with in situ preconcentration in a platinum-coated graphite furnace. **Analytica Chimica Acta**, v. 353, n. 2-3, p. 173–180, out. 1997.
- 35) YIN, Y.; LIU, J.; JIANG, G. Photo-induced chemical-vapor generation for sample introduction in atomic spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 1672–1684, 2011.
- 36) GAO, Y. et al. Metal Ion-Assisted Photochemical Vapor Generation for the Determination of Lead in Environmental Samples by Multicollector-ICPMS. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 8, p. 4495–4502, 21 abr. 2015.
- 37) KAN, M. et al. Determination of total mercury in biological samples using flow injection CVAAS following tissue solubilization in formic acid. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1259–1263, 15 fev. 2006.
- 38) FLORES, M. M.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J. Determination of mercury in mineral coal using cold vapor generation directly from slurries, trapping in a graphite tube, and electrothermal atomization. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 56, p. 1605–1614, 2001.
- 39) GUO, X. et al. Vapor Generation by UV Irradiation for Sample Introduction with Atomic Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 8, p. 2401–2405, 2004.
- 40) HE, Y. et al. Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 4, p. 769–774, 2007.
- 41) NÓBREGA, J. A. et al. UV photochemical generation of volatile cadmium species. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, n. 12, p. 2519, 2011.
- 42) HAN, C. et al. Photo-induced cold vapor generation with low molecular weight alcohol, aldehyde, or carboxylic acid for atomic fluorescence spectrometric determination of mercury. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 388, n. 4, p. 825–30, 2007.
- 43) HOU, X. et al. UV light-emitting-diode photochemical mercury vapor generation for atomic fluorescence spectrometry. **The Analyst**, v. 137, n. 3, p. 686–90, 2012.
- 44) VIEIRA, M. A et al. Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 388, n. 4, p. 837–47, 2007.
- 45) GOUVÊA, M. M. et al. Application of ultraviolet radiation as a contribution to green chemistry and construction of an alternative and low-cost photochemical reactor for pre-treatment of samples. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 337–343, 2014.
- 46) ZHENG, C. et al. Photo-induced chemical vapor generation with formic acid for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potential application to mercury speciation in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 8, p. 746, 2005.

- 47) DE JESUS, A. et al. Determination of mercury in gasoline by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 100–105, 2014.
- 48) KAWAGUCHI, H. Photo-Oxidation of Formic Acid in Aqueous Solution in the Presence of Hydrogen Peroxide. **Chemosphere**, v. 26, n. 1, p. 1965–1970, 1993.