

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MOLECULAR DE  
ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E FORNO DE  
GRAFITE: POSSIBILIDADES E APLICAÇÕES ANALÍTICAS**

WILIAM BOSCHETTI

Porto Alegre, Novembro de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WILIAM BOSCHETTI

**ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MOLECULAR DE  
ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E FORNO DE  
GRAFITE: POSSIBILIDADES E APLICAÇÕES ANALÍTICAS**

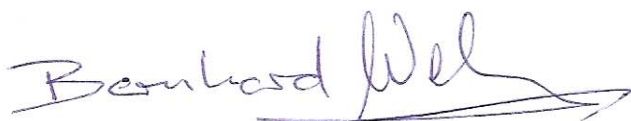
Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de doutor em Química

Profa. Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale  
Orientadora

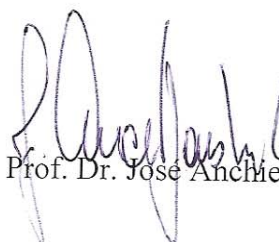
Porto Alegre, Novembro de 2016

A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre novembro de 2012 e outubro de 2016, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Maria Goreti Rodrigues Vale. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

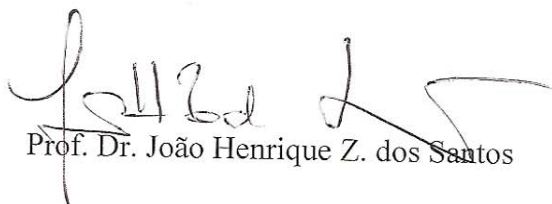
**Comissão Examinadora:**



Prof. Dr. Bernhard Welz



Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto



Prof. Dr. João Henrique Z. dos Santos



Profa. Dra. Márcia Messias da Silva

Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale  
Orientadora

William Boschetti  
Doutorando

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais Ivete e Nestor Boschetti e à minha irmã Priscila Boschetti, por todo amor, dedicação, incentivo, apoio, paciência e compreensão demonstrados em toda minha vida. Com vocês aprendi que a base de tudo está na família.

À minha noiva Denise Bernardi, pelo companheirismo, paciência, compreensão e amor. Te admiro muito e sou grato por ter alguém tão especial ao meu lado.

Aos meus gatos: Bag, Kirk, Spock, Checov e Uhura por me ensinarem tanto sobre a vida.

Aos meus avós, pelo exemplo a ser seguido.

À Professora Maria Goreti, pela amizade, orientação, confiança, incentivo e paciência demonstrados nestes anos de aprendizagem.

À Professora Morgana Dessuy, pela amizade, paciência e ajuda prestada durante o trabalho.

Aos colegas de laboratório: Aline, Álvaro, Ariane, Alex, Eliana, Marcelo, Deninha, Débora, Tatiane, Antônio, Gabriele, Luíza, Susane, Mariana, Leandro, Marianna, Josi, Carla, Ândria, Caroline, Natália e Xicó por todo apoio e pelos momentos de descontração compartilhados.

Ao colega Charles Huber pela amizade.

Ao colega Raimundo Gamela por ser um exemplo de superação.

A todos os meus amigos que de alguma forma me incentivaram e me ajudaram ao longo destes anos.

Aos professores, funcionários e ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da UFRGS, pela oportunidade.

À CAPES, pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

**Muito obrigado a todos**

## **PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA POR ESTE TRABALHO**

### **TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS**

1. Boschetti, W.; Borges, A.R.; Duarte, Á.T.; Ferreira, L.O.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Determinação simultânea de molibdênio e níquel em amostras de vinho tinto brasileiro por HR-CS GF AAS; **17º Encontro Nacional de Química Analítica, Belo Horizonte, Brasil, 2013. (Pôster)**
2. Zmozinski, A.V.; Llorente-Mirandes, T.; Boschetti, W.; Vale, M.G.R.; Lopez-Sanchez, J.F.; Silva, M.M.; Determinação das espécies de As em amostras de pescado e frutos do mar do Brasil e da Espanha utilizando HPLC-ICP-MS; **4º Encontro Brasileiro sobre Especificação Química, Curitiba, Brasil, 2014. (Pôster)**
3. Boschetti, W.; Dalagnol, L.M.G.; Becker, E.M.; Vale, M.G.R.; Investigation of chemical modifiers for silicon determination by solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry; **13<sup>th</sup> Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Merida, Yucatan, México, 2014. (Pôster)**
4. Boschetti, W.; Borges, A.R.; Ferreira, L.O.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; A case study for the simultaneous determination of Mo and Ni by HR-CS GF AAS in solid and liquid samples; **European Symposium on Atomic Spectrometry (ESAS 2014) Prague, Czech Republic, 2014. (Pôster)**
5. Boschetti, W.; Orlando, M.; Dalagnol, L.M.G.; Dullius, M.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Sequential and simultaneous determination of three elements and one diatomic molecule in soil samples *via* HR-CS GF AAS using direct solid sample analysis; **Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXIX, Figueira da Foz, Portugal, 2015. (Pôster)**
6. Boschetti, W.; Orlando, M.; Dalagnol, L.M.G.; Dullius, M.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; The use of direct solid sample analysis for sequential and simultaneous determination of Cd, Cr, Fe and Al in soil samples *via* HR-CS GF AAS; **European Symposium on Atomic Spectrometry, Eger, Hungary, 2016. (Apresentação Oral)**
7. Barrera, E.G.; Bazanella, D.; Castro, P.W.; Boschetti, W.; Vale, M.G.R.; Dessuy, M.B.; Análise direta de medicamentos por HR-CS GF AAS: uma alternativa na determinação de cromo; **18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis, Brasil, 2016. (Pôster)**

8. César J.G.; Zmozinski, A.V.; Boschetti, W.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Determinação de cádmio e cromo em amostras de cogumelos por HR-CS SS-GF AAS; **18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis, Brasil, 2016. (Pôster)**
9. Boschetti, W.; Dalagnol, L.M.G.; Vale, M.G.R.; Dessuy, M.B.; Dullius, M.; HR-CS FAAS: controle de interferência espectral na determinação da composição mineral de mostos e vinhos base utilizados para produção de espumantes; **18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis, Brasil, 2016. (Pôster)**
10. Boschetti, W.; Pizzato, A.H.; Vale, M.G.R.; Dessuy, M.B.; Determinação de flúor em solos por espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite; **18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis, Brasil, 2016. (Pôster e Apresentação Oral)**

#### ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

1. Boschetti, W.; Duarte, A.T.; Borges, A.R.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; de Andrade, J.B.; Welz, B.; Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS; *Anal. Methods* **2014**, 6, 4247-4256.
2. Boschetti, W.; Dalagnol, L.M.G.; Dullius, M.; Zmozinski, A.V.; Becker, E.M.; Vale, M.G.R.; de Andrade, J.B.; Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry; *Microchem. J.* **2016**, 124, 380-385.
3. Boschetti, W.; Orlando, M.; Dullius, M.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; de Andrade, J.B.; Sequential and simultaneous determination of four elements in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry; *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, 31, 1269-1277.
4. Boschetti, W.; Pizzato, A.H.; Vale, M.G.R.; Dessuy, M.B.; New analytical method for total fluorine determination in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry; *Microchem. J.* **2016**, (Aceito).

#### DEMAIS TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO

1. Pereira, M.C.; Boschetti, W.; Rampazzo, R.T.; Celso, P.G.; Hertz, P.F.; Rios, A. de O.; Vizzotto, M.; Flores, S.H.; Mineral characterization of native fruits from the southern region of Brazil; *Food Sci. Technol.* **2014**, 34, 258-266.

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS .....	V
LISTA DE ABREVIATURAS .....	VI
RESUMO .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA .....	1
1.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA .....	4
1.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA .....	9
1.4 APLICAÇÕES ANALÍTICAS PARA A HR-CS AAS E MAS .....	14
1.4.1 Utilizando a HR-CS AAS .....	14
1.4.2 Utilizando a HR-CS MAS .....	20
1.5 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS .....	28
1.5.1 Determinação de Cd, Cr, Fe, Al e F em solos .....	29
1.5.2 Determinação de Mo e Ni em vinhos e fertilizantes .....	35
1.5.3 Determinação de Si em plantas e biomassa .....	40
2. METODOLOGIA .....	45
3. ARTIGOS APRESENTADOS .....	46
3.1 ARTIGO Nº 1 .....	46
3.2 ARTIGO Nº 2 .....	57
3.3 ARTIGO Nº 3 .....	64
3.4 ARTIGO Nº 4 .....	74
4. CONCLUSÕES .....	79
5. REFERÊNCIAS .....	81

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> O primeiro esquema proposto por Alan Walsh, em 1952, para observar a absorção atômica de elementos. (Adaptado de Welz e Sperling <sup>1</sup> ) .....	2
<b>Figura 2:</b> Representação esquemática dos principais componentes de um espectrômetro de HR-CS AAS, onde o monocromador de alta resolução é representado pela combinação de um prisma <i>Littrow</i> (1) e uma rede de difração <i>echelle</i> (2). (Adaptado de Welz <i>et al.</i> <sup>24</sup> ) .....	4
<b>Figura 3:</b> Aplicação do algoritmo de LSBC para correção de uma interferência espectral de NO sobre o sinal analítico do Zn em 213,857 nm. <b>a)</b> Espectros do Zn e do NO sobrepostos; <b>b)</b> espectro de referência para o NO; <b>c)</b> espectro do Zn após a aplicação do algoritmo de LSBC. (Dados obtidos para este trabalho) .....	7
<b>Figura 4:</b> Exemplo de uma determinação sequencial e simultânea para determinação de Cd, Cr, Fe e Al <i>via</i> HR-CS GF AAS. Inicialmente o <b>a)</b> Cd é determinado ( $T_{\text{atom}} = 1700$ °C); na sequência ocorre a troca de comprimentos de onda para a faixa espectral do <b>b)</b> Cr, Fe e AlH, sendo estes determinados simultaneamente ( $T_{\text{atom/vap}} = 2600$ °C). (Dados referentes ao Artigo nº 3 do Item 3) .....	9
<b>Figura 5:</b> Esquema demonstrativo para <b>a)</b> as contribuições vibracionais (linhas vermelhas) e <b>b)</b> rotacionais (linhas roxas) existentes durante uma transição eletrônica de uma molécula. (Adaptado de Struve <sup>56</sup> ) .....	10
<b>Figura 6:</b> Espectro da molécula diatômica de PO que apresenta as contribuições vibracionais para uma transição eletrônica. (Adaptado de Welz <i>et al.</i> <sup>24</sup> ) .....	11
<b>Figura 7:</b> Espectro da molécula diatômica de PO que apresenta as contribuições rotacionais para uma transição eletrônica. Largura dos picos similar a de linhas atômicas. (Adaptado de Welz <i>et al.</i> <sup>24</sup> ) .....	11
<b>Figura 8:</b> Finas estruturas rotacionais observadas para a molécula diatômica de CaF <i>via</i> HR-CS GF MAS. (Espectro obtido a partir dos dados apresentados no Artigo nº 4 do Item 3) .....	12



## LISTA DE ABREVIATURAS

AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês “*Atomic Absorption Spectrometry*”)

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CCD – Dispositivo de carga acoplada (do inglês “*Charge Coupled Device*”)

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CRM – Material de referência certificado (do inglês “*Certified Reference Material*”)

CS – Fonte contínua (do inglês “*Continuum Source*”)

EFSA – Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (do inglês “*European Food Safety Authority*”)

EPA – Agência de Proteção Ambiental Americana (do inglês “*United States Environmental Protection Agency*”)

ET AAS – Espectrometria de absorção atômica por atomização eletrotérmica (do inglês “*Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*”)

FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês “*Flame Atomic Absorption Spectrometry*”)

GF – Forno de grafite (do inglês “*Graphite Furnace*”)

GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês “*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”)

HCL – Lâmpada de cátodo oco (do inglês “*Hollow Cathode Lamp*”)

HR-CS AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês “*High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*”)

HR-CS FAAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e chama (do inglês “*High Resolution Continuum Source Flame Molecular Absorption Spectrometry*”)

HR-CS FMAS – Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e chama (do inglês “*High Resolution Continuum Source Flame Molecular Absorption Spectrometry*”)

HR-CS GF AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite (do inglês “*High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”)

HR-CS GF MAS – Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (do inglês “*High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Molecular Absorption Spectrometry*”)

HR-CS MAS – Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (do inglês “*High Resolution Continuum Source Molecular Absorption Spectrometry*”)

ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês “*Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry*”)

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês “*Inductively Coupled Plasm Optical Emission Spectrometry*”)

LIBS – Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (do inglês “*Laser-induced breakdown spectroscopy*”).

LOD – Limite de detecção (do inglês “*Limit of Detection*”)

LOQ – Limite de quantificação (do inglês “*Limit of Quantification*”)

LS – Fonte de linha (“*Line Source*”)

LS AAS – Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (do inglês “*Line Source Atomic Absorption Spectrometry*”)

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

STPF – Forno com plataforma e temperatura estabilizada (do inglês “*Stabilized Temperature Platform Furnace*”)

T<sub>atom</sub> – Temperatura de atomização

T<sub>pir</sub> – Temperatura de pirólise

T<sub>vap</sub> – Temperatura de vaporização

WD-XRF – Fluorescência de raios X com dispersão de comprimentos de onda (do inglês “*Wavelength-Dispersive X-ray Fluorescence*”)

WHO – Organização Mundial da Saúde (do inglês “*World Health Organization*”)

## RESUMO

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de métodos analíticos que exploram inovações trazidas pela espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS e MAS): corrigir interferências espectrais (atômicas e moleculares), realizar determinações multielementares (sequenciais e/ou simultâneas) e determinar a concentração de elementos através de moléculas diatômicas. A alta resolução da técnica, aliada ao uso do forno de grafite, possibilita a análise direta de amostras sólidas e líquidas. As temperaturas utilizadas, em cada método desenvolvido, foram otimizadas visando sinais analíticos com alta sensibilidade e livres de interferências. Dois métodos foram desenvolvidos para determinar Mo e Ni, simultaneamente, em amostras de fertilizantes e vinhos. Paralelamente foi desenvolvido um método para determinar Si em amostras de plantas. Foi desenvolvido, também, um método para determinação sequencial e simultânea de Cd, Cr, Fe e Al em amostras de solo. Ainda considerando amostras de solo, um método para determinar a concentração de F foi desenvolvido utilizando a molécula diatômica de CaF. Os métodos apresentados demonstraram que as técnicas HR-CS GF AAS e MAS permitem analisar amostras de alta complexidade com mínimo pré-tratamento, realizar determinações multielementares e moleculares e empregar linhas analíticas alternativas.

## ABSTRACT

This work presents the development of analytical methods that explore the innovations reached by high-resolution continuum source atomic and molecular absorption spectrometry (HR-CS AAS and MAS): to correct spectral interferences (atomic and molecular), to perform multielement determinations (sequentially and/or simultaneously), and even to use diatomic molecules in order to determine analyte concentrations. The high-resolution of the technique, combined with the use of the graphite furnace, made possible the direct analysis of solid and liquid samples. The temperatures used in each method were optimized aiming for analytical signals with high sensitivity and free of interferences. Two methods were developed to determine Mo and Ni, simultaneously, in fertilizers and wine samples. A method was developed to determine Si in plant samples. A method for sequential and simultaneous determination of Cd, Cr, Fe and Al in soil samples was also developed. Still considering the soil samples, a method for F determination was developed using the CaF diatomic molecule. All methods demonstrate that the HR-CS GF AAS and MAS techniques allow highly complex samples analysis with minimal pretreatment, enabling multielement and molecular determinations employing also alternative analytical lines.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

O avanço da revolução industrial, iniciada em meados do século XIX, impulsionou a pesquisa e o desenvolvimento de técnicas analíticas capazes de fornecer dados cada vez mais detalhados sobre a composição dos materiais produzidos/utilizados na indústria. Neste período, Kirchhoff e Bunsen, baseando-se nas informações obtidas por Wollaston e Fraunhofer, realizaram experimentos que avaliavam a emissão e absorção da radiação de elementos<sup>1</sup>. Os resultados destes experimentos permitiram a formulação da primeira lei relacionando a emissão e absorção, a qual afirma que uma substância que emite radiação em um comprimento de onda também absorve esta mesma radiação, postulada por Kirchhoff em 1860<sup>1,2</sup>. Planck, em 1900, demonstrou matematicamente a existência uma interação entre a estrutura atômica e a radiação emitida ou absorvida pelos átomos<sup>1</sup>. Estas informações foram a base para que Bohr (1913) fundamentasse o seu modelo atômico, propondo que os níveis energéticos de um átomo são quantizados<sup>1</sup>. Estas descobertas desencadearam um grande avanço nas técnicas espectroscópicas que abordavam, principalmente, o conceito de emissão, pois instrumentalmente era mais simples registrar uma radiação em um fundo negro do que uma linha escura em um espectro contínuo. Outro ponto importante para o desenvolvimento das técnicas de emissão foi o emprego de fontes de excitação elétricas, visto que poucos elementos podem ser excitados por uma chama<sup>3</sup>. As fontes de excitação elétrica forneciam energia suficiente para excitar e/ou ionizar os átomos, fato que aumentou ainda mais o interesse em técnicas que envolvessem o conceito de emissão.

A absorção atômica não alcançou o mesmo sucesso que a emissão no início do século XX, principalmente, devido às dificuldades tecnológicas existentes na época. Por exemplo, os monocromadores dispersavam a radiação, ou seja, a resolução era muito baixa para detectar discretas faixas escuras em um espectro contínuo. A técnica de espectrometria de absorção atômica (AAS) passou a ganhar destaque, apenas a partir da década de 1950, com os experimentos realizados por Alan Walsh<sup>1,4</sup>. As inovações trazidas por Walsh, durante os anos de 1952 e 1962, foram a base para construção do primeiro espectrômetro de absorção atômica<sup>4</sup>. Dentre as principais contribuições realizadas por Walsh durante este período vale destacar a utilização de um queimador de Lundegårdh, o qual consistia em um sistema de nebulização pneumática com posterior mistura do gás de combustão (acetileno), o que possibilitaria injeção de amostras líquidas em uma chama de temperaturas próximas a 2000 K,

condição ideal para obtenção de átomos no estado fundamental<sup>4</sup>. A aplicação de chama como fonte de átomos recebeu o nome de AAS com atomização por chama (FAAS).

Outra grande inovação proposta por Walsh foi o uso de lâmpadas de cátodo oco (HCL). Estas lâmpadas apresentam como vantagem a emissão de radiações específicas, facilitando a observação dos espectros de absorção atômica. O princípio de funcionamento destas lâmpadas de fonte de linha (LS), que inicialmente foi abordado por Friedrich Paschen<sup>5</sup>, considerava o fato de que gases ionizados eram prontamente atraídos ao cátodo, o que proporcionava uma alta transferência de energia por colisão. Se o cátodo fosse composto de um material puro, este poderia ser excitado e, assim, esta lâmpada emitiria a radiação específica deste material<sup>1,4,5</sup>. Por outro lado, o emprego de uma HCL representou a principal desvantagem da técnica de AAS, tornando-a monoelementar. Outro importante postulado de Walsh foi a necessidade de modulação da radiação das lâmpadas de cátodo oco, evitando assim que a radiação emitida pela amostra fosse registrada como sinal analítico<sup>1,5</sup>. Em relação ao sistema de detecção, o emprego de células foto-elétricas, também conhecidas como células fotomultiplicadoras (PMT)<sup>6</sup>, juntamente com um osciloscópio, possibilitou o registro de sinais eletrônicos ao invés da impressão fotográfica da radiação. Desse modo, Alan Walsh estabeleceu os componentes principais de um espectrômetro de AAS, observado esquematicamente na Figura 1.



**Figura 1:** O primeiro esquema proposto por Alan Walsh, em 1952, para observar a absorção atômica de elementos. (Adaptado de Welz e Sperling<sup>1</sup>)

A configuração básica do espectrômetro proposta por Walsh é utilizada até hoje, o que reforça a robustez dessa técnica. Com a comercialização destes equipamentos a partir de 1961 pela Perkin-Elmer, muitos trabalhos foram iniciados no intuito de explorar ao máximo o que a técnica de AAS proporcionava<sup>1,5</sup>. Foi observado então, que os resultados possuíam menos interferências e maior sensibilidade, principalmente na região próxima ao UV, do que a análoga emissão atômica<sup>1</sup>. Ainda neste contexto, a busca por uma maior compreensão dos seus componentes, assim como mais aplicações para a técnica de AAS, levou Boris L'vov<sup>7</sup>,

no final dos anos 50, a introduzir um novo atomizador para AAS: um tubo de grafite aquecido eletricamente. Apesar de sua ideia não ter sido prontamente aceita, ela foi a precursora da técnica que hoje chamamos de AAS com atomização eletrotérmica ou com forno de grafite (ET ou GF AAS).

Posteriormente, em 1981, Walter Slavin<sup>8</sup>, baseado nas observações experimentais de L'vov, propôs o conceito de forno com plataforma e temperatura estabilizada (STPF, do inglês "*Stabilized Temperature Platform Furnace*"), o qual estabelece parâmetros para que a análise em GF AAS ocorra com o menor número de interferências possível. Dentre estes parâmetros, destacam-se: o uso de altas taxas de aquecimento na etapa de atomização no forno de grafite, interrupção do fluxo de gás durante a etapa de atomização e o emprego de modificadores químicos (permanentes ou em solução). Outro avanço para a AAS, foi a utilização de tubos de grafite com aquecimento transversal, diminuindo, assim, os gradientes de temperatura que eram observados dentro dos atomizadores com aquecimento longitudinal<sup>1</sup>. Estes conceitos foram fundamentais para que a técnica de AAS permanecesse evoluindo.

O princípio de funcionamento da AAS, portanto, está baseado na propriedade que os átomos possuem de absorver radiação de comprimentos de onda específicos. Em outras palavras, considerando a potência radiante incidente ( $P_0$ ) como sendo a radiação emitida pela HCL que é detectada pelo PMT, e que parte desta radiação é atenuada (potência radiante transmitida,  $P_{tr}$ ) pela presença de analito (nuvem de átomos no estado fundamental) no atomizador, é possível de se obter a transmitância através da razão entre  $P_{tr}/P_0$ . Aplica-se, então, a função logarítmica do inverso da transmitância (denominada absorvância), a qual possui uma relação linear, porém finita, com a concentração de analito na amostra, cuja equação é dada pela Lei de Lambert-Beer<sup>1</sup>.

A partir do fim da década de 80, houve certa estagnação no desenvolvimento instrumental, em relação a novas descobertas e aplicações da AAS<sup>3</sup>. Inclusive, em um artigo de 1989, Gary Hieftje<sup>9</sup> questiona o futuro da AAS, caso nenhuma inovação tecnológica fosse desenvolvida neste sentido. Independentemente a estes comentários, inúmeros trabalhos envolvendo o desenvolvimento de uma fonte contínua (CS) de radiação estável, de monocromadores com maior resolução e de detectores com maior capacidade de processamento, estavam (ou já haviam sido desenvolvidos) em progresso nesta época<sup>10-30</sup>. Considerando a previsão feita por Walsh, onde seria necessário o emprego de um monocromador capaz de separar comprimentos de onda com na ordem de 2 pm para que uma CS pudesse ser empregada [1], James Harnly<sup>18,19,25-30</sup>, ao longo de 20 anos de trabalho, foi

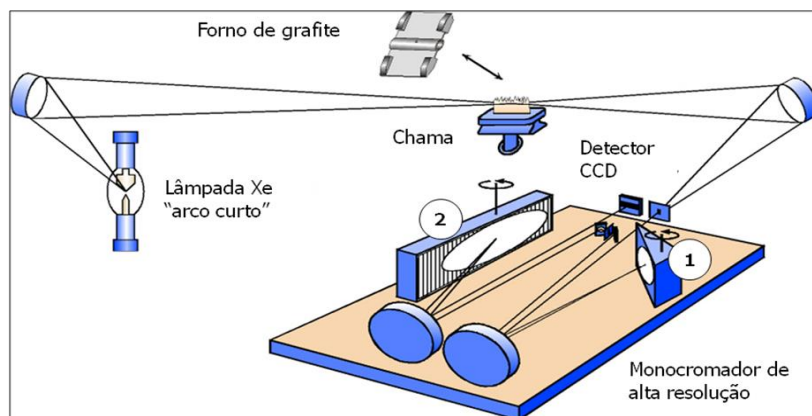
quem mais se aproximou desta configuração; conseguindo, inclusive, realizar determinações multielementares utilizando uma fonte contínua. Vale ressaltar que a instrumentação utilizada por Harnly era, na verdade, uma combinação de componentes comerciais, ou seja, o sistema não estava otimizado para a AAS. Sendo assim, os estudos apresentados por Harnly não chamaram a atenção de empresas de equipamentos analíticos<sup>5</sup>.

Finalmente, em 1996, Becker-Ross *et al.*<sup>31</sup> determinaram os requisitos necessários para aplicação de CS AAS: a resolução do espectrômetro deveria ser da mesma magnitude de uma linha de absorção atômica; e o ruído do detector deveria ser negligenciável, ou seja, era necessário utilizar uma fonte de radiação de alta intensidade. Os autores chegaram a estas conclusões através de estudos sistemáticos reavaliando todos os componentes do espectrômetro de absorção atômica proposto por Walsh: a fonte de radiação<sup>32,33</sup>, o monocromador<sup>31-37</sup> e o detector<sup>35-37</sup>. Desse modo, foi desenvolvido o primeiro protótipo que originaria a técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).

## **1.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA**

O primeiro espectrômetro de HR-CS AAS foi comercializado em 2004 pela empresa alemã Analytik Jena (Jena, Alemanha). Desde o seu desenvolvimento e comercialização, já foram publicadas inúmeras revisões sobre a técnica de HR-CS AAS<sup>5,38-51</sup>, demonstrando a importância da mesma como uma ferramenta analítica. Em comparação com os equipamentos utilizados pela LS AAS, todos os atomizadores empregados permaneceram os mesmos. A Figura 2 apresenta um esquema do espectrômetro de HR-CS AAS, com ênfase em seu monocromador duplo, na lâmpada de arco curto de Xe e no detector de carga acoplada (CCD)<sup>24</sup>.





**Figura 2:** Representação esquemática dos principais componentes de um espectrômetro de HR-CS AAS, onde o monocromador de alta resolução é representado pela combinação de um prisma *Littrow* (1) e uma rede de difração *echelle* (2). (Adaptado de Welz *et al.*<sup>24</sup>)

A lâmpada de xenônio de arco-curto sob alta pressão foi concebida pela companhia alemã GLE (Berlim, Alemanha)<sup>24</sup>. É uma fonte de radiação similar a uma lâmpada convencional de arco-curto de Xe, porém ao invés de possuir um plasma difuso em seu cátodo, um diminuto plasma, com aproximadamente 10 000 K, é estabilizado em sua superfície – esse modo é chamado *hot-spot*<sup>42</sup>. Esta fonte de radiação possui alta potência radiante, alcançando intensidade próxima a duas ordens de grandeza maior do que uma HCL e de uma lâmpada de arco-curto de Xe em modo difuso (maiores diferenças em menores comprimentos de onda)<sup>24</sup>. Esta característica pode ser observada em toda região do espectro utilizado em AAS, entre 190 e 900 nm, reduzindo, assim, o efeito de ruído proveniente dos fótons, característica desejada para CS AAS<sup>31</sup>. Em outras palavras, como a CS tem a mesma intensidade de emissão em toda a faixa espectral de interesse, linhas secundárias podem ser utilizadas sem perdas de precisão e, portanto, melhores limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) podem ser alcançados.

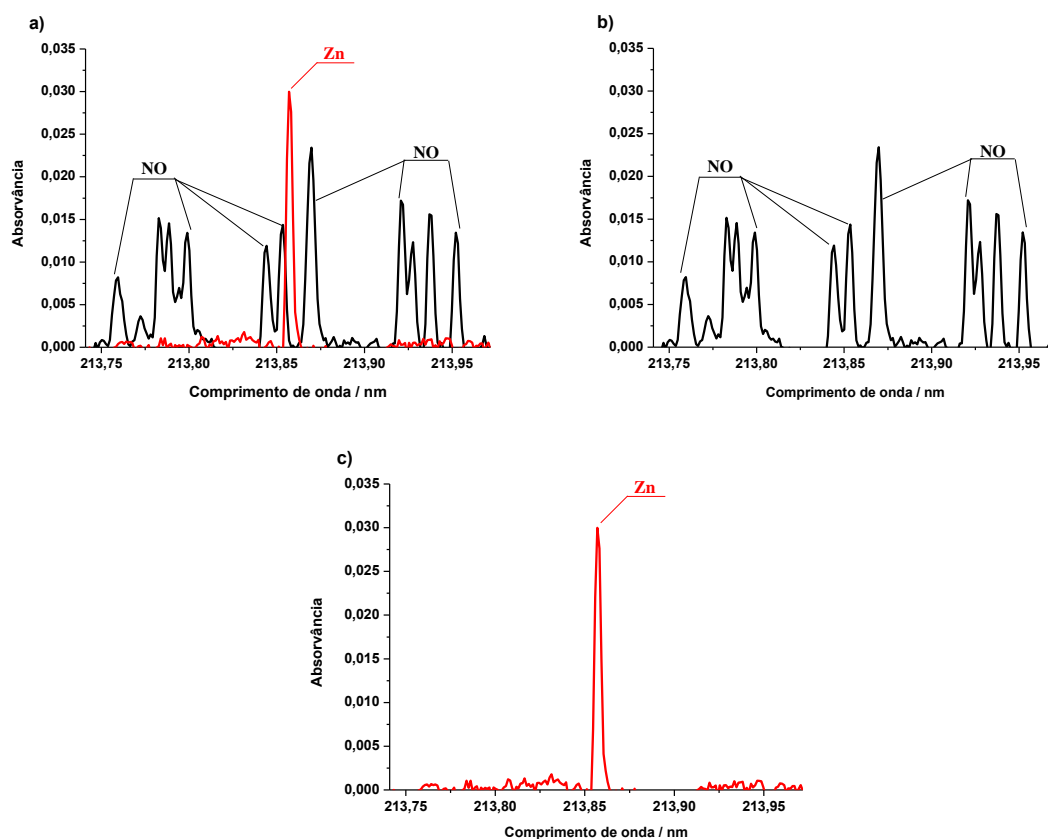
O monocromador duplo de alta resolução é composto por um prisma *Littrow* e uma rede de difração *echelle*. O prisma realiza a pré-dispersão da radiação contínua, a qual possui atenuações provenientes do analito e de quaisquer outros componentes presentes. Posteriormente, apenas a faixa pré-dispersa (entre 0,3 a 3 nm, aproximadamente) é direcionada à rede *echelle*, que a dispersa mais uma vez<sup>40</sup>. Estima-se que a resolução do monocromador corresponde a uma largura média de linha entre 2 e 8 pm, dependendo do comprimento de onda de interesse (maior resolução por pixel para menores comprimentos de onda). Finalmente, essa radiação é encaminhada ao detector para avaliação do seu sinal<sup>24</sup>.

O sistema de detecção mais adequado e com capacidade para processar a grande quantidade de informação gerada pelo monocromador, são os pixels do detector CCD combinados em um arranjo linear. A sobreposição de CCD em “camadas” permite uma rápida transferência eletrônica entre eles, o que gera maior quantidade de corrente, e assim, maiores sinais analíticos e menor ruído. Cada região fotossensível do CCD (denominada pixel) atua como um detector independente. Nos equipamentos comerciais atuais, sua superfície de detecção é composta por 588 pixels, dos quais 200 são aplicados para fins analíticos. A função dos demais pixels é ajustar a posição do prisma durante as trocas de comprimento de onda. A óptica de um sistema como este é delicada, e pequenas oscilações (vibração, corrente elétrica, etc.) podem interferir no correto encaminhamento da radiação proveniente do monocromador ao detector. Para corrigir possíveis flutuações, uma lâmpada de Ne é utilizada, visto que são conhecidos os picos provenientes do Ne e em qual pixel cada um deve ser gerado. Portanto, caso haja alguma flutuação, a linha do Ne também será deslocada, e o espectrômetro estará apto a efetuar a correção do comprimento de onda<sup>24</sup>.

A combinação da alta resolução do monocromador com a capacidade do detector trouxe uma grande inovação para a técnica de HR-CS AAS: a possibilidade de se observar com detalhes a vizinhança da região da linha analítica de interesse. Isto é possível pois uma terceira dimensão é adicionada aos resultados: o comprimento de onda. Esta possibilidade permite a obtenção de informações que não são visualizadas quando do uso de uma fonte de linha clássica, onde apenas a absorvância *versus* tempo é visualizada. Este recurso permite, também, que mais de um comprimento de onda seja monitorado simultaneamente, contanto que eles estejam dentro do intervalo espectral coberto pelo detector. Além disto, a sensibilidade do sinal analítico (área do pico) pode ser reduzida ou aumentada, dependendo do número de pixels avaliados, tornando possível a flexibilização dos parâmetros de mérito (LOD e LOQ)<sup>24</sup>.

Deste modo, a observação e correção de interferências espectrais, sejam moleculares ou atômicas, podem ser realizadas através da HR-CS AAS, o que não era possível por LS AAS<sup>24</sup>. O espectrômetro possui um sistema para correção destas interferências por um algoritmo de mínimos quadrados (LSBC). Este algoritmo toma como referência um espectro com mesmo comportamento que a interferência em questão, sendo possível corrigi-lo (subtraí-lo) sem alterações no sinal do elemento investigado<sup>5,24</sup>. A Figura 3 demonstra a aplicação do algoritmo LSBC para correção de uma interferência espectral da molécula de NO sobre a linha analítica do Zn (213,857 nm). É possível observar que existe uma

sobreposição da estrutura molecular do NO sobre o sinal analítico do Zn. Obtendo-se um espectro de referência para o NO, é possível subtraí-lo do intervalo espectral avaliado, aplicando o algoritmo de LSBC, restando apenas o sinal analítico do Zn.



**Figura 3:** Aplicação do algoritmo de LSBC para correção de uma interferência espectral de NO sobre o sinal analítico do Zn em 213,857 nm avaliando uma amostra de vinho *via* HR-CS FAAS. **a)** Espectros do Zn e do NO sobrepostos; **b)** espectro de referência para o NO; **c)** espectro do Zn após a aplicação do algoritmo de LSBC. (Dados obtidos para este trabalho)

Outra vantagem do monitoramento da vizinhança de uma linha analítica (intervalo espectral) é fato de que mais de um comprimento de onda pode ser observado, ou seja, a técnica de HR-CS AAS permite que análises multielementares sejam realizadas. Na literatura, são reportadas três situações para este tipo de análise *via* HR-CS GF AAS:

1) Uma possibilidade é os analitos apresentarem linhas analíticas próximas o suficiente para aparecerem dentro do mesmo intervalo espectral coberto pelo detector CCD, porém com volatilidades diferentes. Neste caso, pode-se utilizar duas etapas de atomização, e assim a determinação de cada elemento será realizada em sua temperatura de atomização

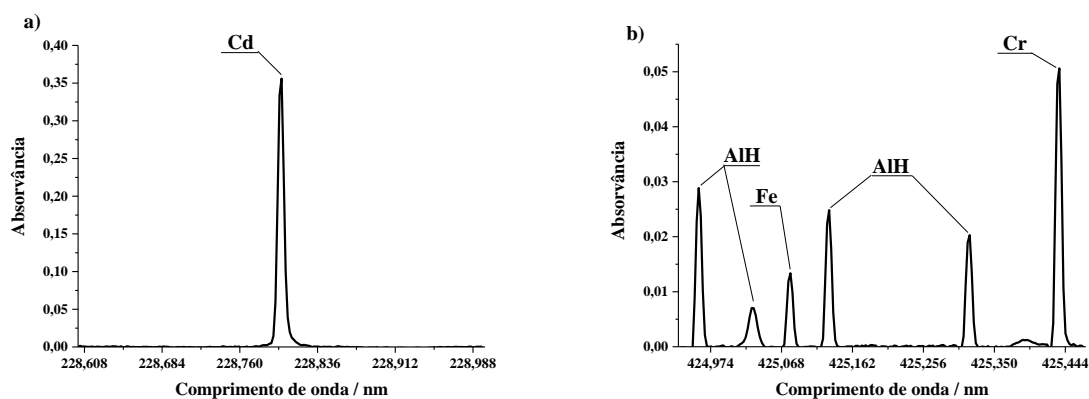
( $T_{\text{atom}}$ ) otimizada. Apesar de, neste caso, existir uma sequência de duas etapas de atomização, este tipo de análise deve ser considerada simultânea, pois não há necessidade de trocar a linha analítica<sup>5,24,45</sup>.

2) Outra possibilidade é os analitos apresentarem volatilidades semelhantes e possuírem linhas atômicas próximas, dentro de um mesmo intervalo espectral. Neste caso, mais uma vez a análise é considerada simultânea, ou seja, dois ou mais analitos são atomizados juntos e o valor de absorvância dos mesmos é registrado simultaneamente<sup>5,24,45</sup>. Ressalta-se que para realizar uma determinação simultânea, a sensibilidade das linhas analíticas empregadas deve ser compatível com a concentração dos analitos presentes na amostra de interesse.

3) O terceiro caso, é os analitos apresentarem volatilidades diferentes e as linhas analíticas serem distantes, ou seja, o caso onde as linhas analíticas não aparecerem dentro do mesmo intervalo espectral coberto pelo detector CCD. Nesta situação, os elementos são determinados de maneira sequencial, empregando condições otimizadas para cada um independentemente, sendo necessária a troca da linha analítica entre os ciclos de atomização<sup>5,24,45</sup>.

Um bom exemplo envolvendo a determinação sequencial e simultânea de elementos (Cd, Cr, Fe e Al) pode ser observado na Figura 4. Neste caso, o Cd (228,802 nm), que apresenta comportamento térmico diferente dos demais elementos avaliados, é inicialmente atomizado. Na sequência, ocorre a troca da faixa espectral para a região que compreende as linhas analíticas do Cr (425,433 nm), Fe (425,076 nm) e da molécula diatômica de AlH (425,315 nm). Como a molécula de AlH e os analitos Cr e Fe apresentam comprimentos de onda próximos e comportamento térmico similar, trata-se de uma determinação simultânea. Mais detalhes deste trabalho podem ser encontrados no Artigo nº 3 do Item 3.

Além da vantagem de permitir análises multielementares, a possibilidade de se observar um intervalo espectral também permite que algumas moléculas sejam avaliadas. Neste momento, quando o sinal analítico de uma molécula passa a ser monitorado, a técnica de HR-CS AAS passa a ser chamada, conseqüentemente, de espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS).



**Figura 4:** Exemplo de uma determinação sequencial e simultânea para determinação de Cd, Cr, Fe e Al *via* HR-CS GF AAS. Inicialmente o **a)** Cd é determinado ( $T_{\text{atom}} = 1700 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ); na sequência ocorre a troca de comprimentos de onda para a faixa espectral do **b)** Cr, Fe e AlH, sendo estes determinados simultaneamente ( $T_{\text{atom/vap}} = 2600 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). (Dados referentes ao Artigo nº 3 do Item 3)

### 1.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA

A determinação de elementos utilizando moléculas diatômicas não é uma novidade da técnica de HR-CS MAS. A determinação de elementos não-metálicos, utilizando espectrômetros de absorção atômica, já havia sido reportada por alguns pesquisadores. Em 1976, Haraguchi e Fuwa<sup>52</sup>, determinaram P, através da absorção molecular de PO (246 nm), usando uma lâmpada de deutério como fonte de radiação e a chama de óxido nitroso-acetileno como atomizador. Já em 1978, Dittrich<sup>53</sup>, publicou o primeiro trabalho onde a absorção molecular foi obtida utilizando o forno de grafite, como atomizador, e uma lâmpada de cátodo oco de H<sub>2</sub>, como fonte de radiação, no intuito de determinar haletos de gálio e índio. No entanto, o emprego dos instrumentos de absorção atômica convencionais para determinação molecular obteve pouco sucesso. Neste caso, os principais fatores limitantes dos equipamentos convencionais de AAS para determinação molecular são: o uso de uma fonte de radiação que emita o comprimento de onda específico na região onde a molécula investigada absorva, a possibilidade de interferências espectrais e à baixa resolução dos instrumentos.

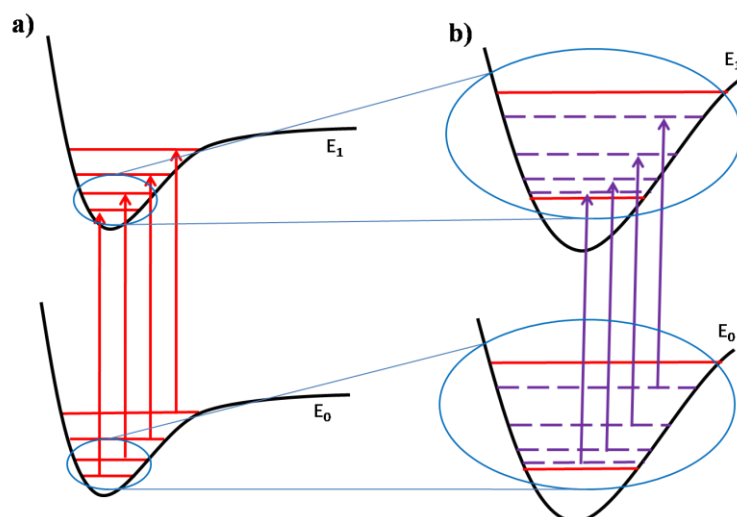
Welz *et al.*<sup>24</sup>, reportaram que a técnica de HR-CS MAS foi “descoberta” concomitante ao desenvolvimento da HR-CS AAS. Porém, a diferença entre as técnicas, absorção

molecular e atômica, não é a instrumentação, mas sim na maior complexidade nas condições de formação das moléculas e seus respectivos espectros. Como comentando, a literatura apresenta vários artigos de revisão sobre a HR-CS AAS<sup>5,42,45,46</sup> e dois que se dedicam exclusivamente para a HR-CS MAS<sup>54,55</sup>.

Um dos fatores decisivos para aplicação da técnica de HR-CS AAS na determinação molecular é a dificuldade de se obter espectros de absorção atômica de não-metais. Estes elementos, como o N, P, S, F, Cl, Br, I, apresentam suas linhas de ressonância na região UV vácuo, onde, em alguns casos, nem mesmo um plasma (de Ar) indutivamente acoplado (ICP) é capaz de gerar uma população significativa de átomos excitados<sup>24,54,55</sup>. Portanto, a possibilidade de se observar moléculas formadas por estes elementos na mesma região utilizada pela AAS vem ganhando cada vez mais destaque.

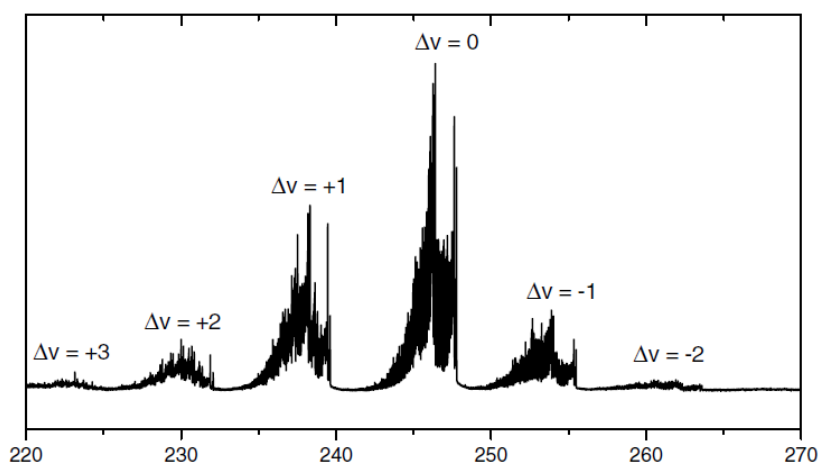
Vale ressaltar que nos átomos, a radiação absorvida está diretamente relacionada à atração eletrostática que existe entre seu núcleo (positivo) com os elétrons (negativos), ou seja, a sua energia de transição eletrônica. Ao absorver um fóton, os elétrons do átomo passam a ocupar orbitais de maior energia (menor do que a energia de ionização), atingindo seu estado excitado. Cada transição eletrônica está diretamente relacionada com um comprimento de onda específico de acordo com a Lei de Plank<sup>1</sup>; sendo que, aquela que apresentar maior probabilidade de acontecer é considerada, em AAS, a “linha analítica mais sensível” (linha ressonante). Os outros níveis energéticos são interpretados como “linhas menos sensíveis” (linhas alternativas), porém todos os perfis são similares: um pico estreito e agudo<sup>1</sup>.

No caso das moléculas, sabe-se que além da energia de transição eletrônica ( $E_{ele}$ ), elas possuem também energias de transições vibracionais e rotacionais. Para moléculas diatômicas, a  $E_{ele}$  é próxima à dos átomos, ou seja, ambos absorvem na mesma região do espectro eletromagnético. No entanto, diferentemente dos átomos, os elétrons de uma molécula, ao realizarem uma transição eletrônica, podem ocupar, também, diferentes níveis vibracionais e rotacionais<sup>54,55</sup>, como mostra a Figura 5.

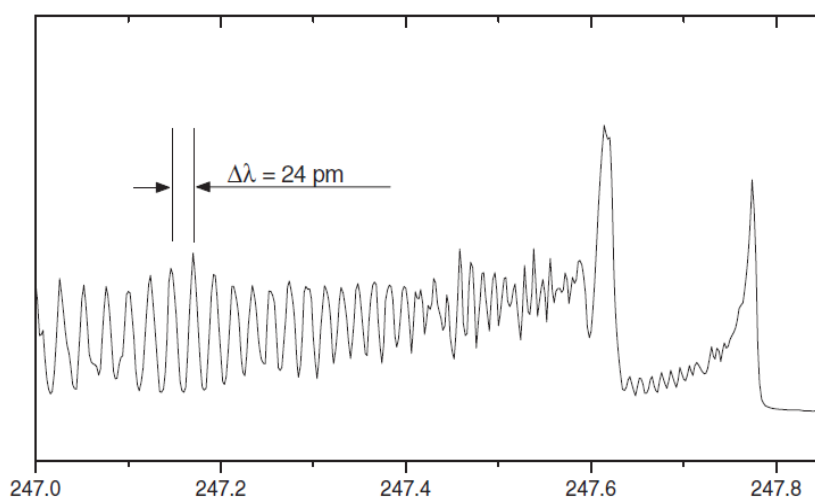


**Figura 5:** Esquema demonstrativo para **a)** as contribuições vibracionais (linhas contínuas) e **b)** rotacionais (linhas tracejadas) existentes durante uma transição eletrônica de uma molécula. (Adaptado de Struve<sup>56</sup>)

Neste contexto, a alta resolução da técnica de HR-CS MAS permite que as contribuições vibracionais e rotacionais de uma transição eletrônica sejam visualizadas, como mostra a Figura 6. Isto foi relatado por Welz *et al.*<sup>24</sup> ao avaliarem o comportamento da molécula diatômica de PO, sendo possível observar as diferentes contribuições vibracionais para esta molécula. Mais, a combinação do monocromador duplo com o detector CCD permite, também, a visualização de finas estruturas (picos estreitos e agudos) que são, neste caso, decorrentes das contribuições rotacionais em uma transição eletrônica. Welz *et al.*<sup>24</sup> observaram a formação destas finas estruturas rotacionais, ao avaliarem a molécula de PO (Figura 7), e constataram que a largura das finas estruturas rotacionais é similar a de uma linha atômica (na ordem de algumas dezenas de picômetros). Este tipo de informação não seria possível de ser observada em um instrumento de AAS convencional (LS AAS).



**Figura 6:** Espectro da molécula diatômica de PO que apresenta as contribuições vibracionais para uma transição eletrônica. (Adaptado de Welz *et al.*<sup>24</sup>)



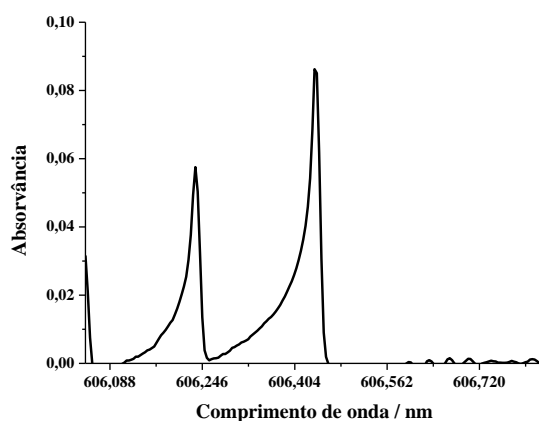
**Figura 7:** Espectro da molécula diatômica de PO que apresenta as contribuições rotacionais para uma transição eletrônica. Largura dos picos similar a de linhas atômicas. (Adaptado de Welz *et al.*<sup>24</sup>)

O emprego da técnica de HR-CS MAS permite, portanto, a determinação elementar monitorando o sinal analítico de uma molécula diatômica. Vale ressaltar que o alvo é um dos átomos presentes na molécula, enquanto o outro é empregado para que a mesma possa ser gerada. Sendo assim, sabendo que as temperaturas aplicadas pelos atomizadores em AAS são capazes de romper as ligações das moléculas, é necessário que uma molécula diatômica com alta energia de dissociação seja avaliada<sup>54,55</sup>. São poucas as moléculas diatômicas que mantêm sua ligação a tais temperaturas (temperatura de vaporização –  $T_{\text{vap}}$ ) e, justamente em função



desta propriedade, a quantidade de moléculas que podem ser determinadas é limitada pela temperatura do atomizador<sup>24,54,55</sup>.

Neste contexto, a energia de dissociação das moléculas, dado que pode ser encontrado na literatura<sup>57</sup>, é um dos parâmetros a ser avaliado. Presume-se que quanto maior for força de ligação, maior será a probabilidade da molécula permanecer estável em altas temperaturas. Segundo Butcher<sup>55</sup>, como estimativa, uma molécula diatômica que apresentar energia de dissociação de aproximadamente  $500 \text{ kJ mol}^{-1}$ , terá boa estabilidade térmica. Um bom exemplo disto é a molécula diatômica de CaF, que apresenta energia de dissociação<sup>57</sup> de  $529 \text{ kJ mol}^{-1}$  e que, ao ser avaliada na  $T_{\text{vap}}$  de  $2100 \text{ }^\circ\text{C}$ , apresenta um espectro típico para este tipo de molécula, onde as finas estruturas rotacionais podem ser observadas, como mostra a Figura 8. Mesmo considerando a energia de dissociação um parâmetro com caráter mais indicativo do que absoluto, ela não pode ser desconsiderada durante o processo de escolha de uma molécula alvo.



**Figura 8:** Finas estruturas rotacionais observadas para a molécula diatômica de CaF *via* HR-CS GF MAS. (Espectro obtido a partir dos dados apresentados no Artigo nº 4 do Item 3).

Portanto, a união de uma lâmpada de fonte contínua, onde qualquer comprimento de onda entre 190 a 900 nm pode ser utilizado, com a alta resolução e com o sistema de detecção, permitiu que novas possibilidades analíticas pudessem ser desenvolvidas. Deste modo, a HR-CS MAS merece destaque por realizar a determinação de elementos, principalmente não-metais, através da absorção de suas respectivas moléculas diatômicas.

## 1.4 APLICAÇÕES ANALÍTICAS PARA A HR-CS AAS E MAS

### 1.4.1 Utilizando a HR-CS AAS

Os primeiros trabalhos realizados utilizando a HR-CS AAS acompanham o próprio processo de desenvolvimento da técnica, como reportado por Heitmann *et al.*<sup>37</sup>, em 1996. No ano de 2000, Becker-Ross *et al.*<sup>58</sup> relataram a determinação de As e Se em amostras de urina humana diluída. A inovação apresentada por estes autores foi a observação, identificação e correção (usando o algoritmo LSBC) de fundos estruturados de NO e PO, fato que não seria possível de ser realizado através da LS AAS. Em outra publicação, já em 2002, Welz *et al.*<sup>59</sup>, determinaram Tl em sedimento marinho *via* HR-CS GF AAS. As amostras foram preparadas na forma de suspensões e foi verificada a existência de uma interferência espectral de SO sobre o sinal analítico do Tl. Novamente, aplicando o algoritmo de LSBC, foi possível corrigir a interferência espectral. Neste trabalho, os autores também relataram que foi possível observar a presença do sinal analítico de outro elemento, o Fe (276,752 nm), na vizinhança da linha do Tl (276,787 nm). Fato este, impossível de ser observado utilizando a técnica de AAS convencional.

Em outro trabalho, reportado por Vale *et al.*<sup>60</sup> em 2004, Ni foi determinado em petróleo *via* HR-CS GF AAS utilizando amostras na forma de emulsão com Triton X-100. Os autores reportam que duas linhas analíticas do Ni foram observadas dentro do mesmo intervalo espectral (232,003 nm – principal e 232,138 nm – alternativa). Deste modo, a faixa de concentração de Ni que pôde ser determinada aumentou em uma ordem de magnitude. No ano seguinte, Silva *et al.*<sup>61</sup> relataram o desenvolvimento de um método analítico capaz de determinar Cd em amostras de carvão por HR-CS GF AAS e análise direta de amostras sólidas. Mesmo com o emprego de Ir como modificador permanente, os autores observaram a presença de um fundo estruturado correspondente à molécula de PO, interferindo no sinal analítico do Cd. Para corrigi-lo, os autores utilizaram o algoritmo de LSBC. Este mesmo tipo de correção (para PO) foi empregado por Ribeiro *et al.*<sup>62</sup>, também em 2005, para a determinação de Co em amostras biológicas utilizando análise direta de amostras sólidas.

Em 2006, Borges *et al.*<sup>63</sup>, reportaram um método para determinação de Pb em amostras biológicas *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Na linha analítica de 217,001 nm, os autores observaram a presença de uma interferência espectral da molécula de PO quando temperaturas acima de 1500 °C eram empregadas. Utilizando um espectro de referência obtido a partir de uma solução de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e

aplicando o algoritmo de LSBC, a interferência pôde ser corrigida. No ano seguinte, Bohrer *et al.*<sup>64</sup> determinaram Al em amostras com alta concentração de Fe (produtos farmacêuticos) por HR-CS GF AAS. Os autores avaliaram o sinal analítico do Al nas duas linhas mais sensíveis do analito, 309,278 e 396,152 nm. Como resultado, eles observaram que não seria possível realizar a determinação de Al utilizando o comprimento de onda de 309,278 nm pela existência de uma linha analítica de Fe em 309,271 nm, o que não foi possível de ser separado, nem mesmo com a técnica de alta resolução empregada. Portanto, os autores reportaram sucesso apenas quando o comprimento de onda de 396,152 nm foi utilizado. Ainda em 2007, Dessuy *et al.*<sup>65</sup> investigaram a atomização do P utilizando a HR-CS GF AAS. Como grande contribuição, os autores, ao realizarem a determinação de P no comprimento de onda de 213,617 nm sem o uso de modificadores, relataram a presença de absorção molecular de PO na vizinhança desta linha analítica, fato que não poderia ser constatado através de um equipamento de fonte de linha convencional.

Amorim Filho *et al.*<sup>66</sup>, em 2008, avaliaram diferentes pré-tratamentos para determinação de Cu, Cr, Fe, Ni, Sb, Pb e Zn *via* HR-CS FAAS. Um ponto importante deste trabalho foram os resultados obtidos ao se comparar as análises realizadas por HR-CS FAAS e por AAS convencional com chama, avaliando amostras submetidas a uma decomposição assistida por microondas. Esta comparação mostrou, segundo os autores, que as análises realizadas utilizando o equipamento de alta resolução com fonte contínua foram mais rápidas e mais sensíveis. Também em 2008, Raposo *et al.*<sup>67</sup> desenvolveram um método analítico para determinar Pb em amostras de ácido fosfórico *via* HR-CS FAAS. Os autores utilizaram a combinação do algoritmo de LSBC e o uso de um padrão interno (Co), no intuito de eliminar interferências espectrais e de transporte, durante o procedimento de determinação de Pb. Deste modo, avaliando os resultados dos testes recuperação foi possível observar que com o uso do padrão interno e do algoritmo de LSBC os valores recuperados para Pb ficaram entre 96 e 104%; já aqueles obtidos sem qualquer correção, variaram entre 76 e 180%.

Outro trabalho utilizando a HR-CS FAAS foi reportado por Oliveira *et al.*<sup>68</sup>, em 2009. Os autores determinaram Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de folha de cana-de-açúcar submetidas à decomposição assistida por microondas. Para tal, foram utilizadas as linhas ressonantes dos elementos Cu, Fe, Mn e Zn e linhas alternativas para Ca, Mg e K. No caso do Zn, foi utilizado o algoritmo de LSBC para corrigir um fundo estruturado de NO. Foram avaliados cinco materiais de referência certificados (CRM) para comprovar a exatidão dos resultados e as concentrações encontradas foram concordantes com as certificadas (teste *t*-

*Student* – nível de 95% de confiança), considerando todos os elementos investigados. Também em 2009, Resano *et al.*<sup>69</sup> desenvolveram um método para determinar P em amostras biológicas *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Os autores compararam os resultados para concentração de P avaliando sua determinação elementar e molecular (PO). Para que a absorção atômica de P fosse obtida, foram utilizados Pd e ácido ascórbico, como modificadores químicos em solução, e W, como modificador permanente. Considerando a medidas de absorção molecular, apenas o uso de W como modificador permanente foi suficiente para garantir de determinação de P, no entanto, os autores relatam que cuidados são necessários devido a possíveis interferências de NO sobre o sinal analítico da molécula de PO.

Araújo *et al.*<sup>70</sup>, ainda em 2009, desenvolveram um método para determinação de Sb em amostras de sedimento *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Para tal, os autores utilizaram uma linha analítica alternativa para do Sb em 231,147 nm; foi empregado, também, Ir como modificador permanente. Durante as análises das amostras de sedimentos, foi observada a formação de uma interferência espectral, que pôde ser corrigida combinando dois espectros de referência, SiO e PO, através do algoritmo de LSBC. Em seguida, seis CRM foram avaliados e os valores foram concordantes, ao nível de 95% de confiança, através do teste *t-Student*.

A partir do ano de 2009, estudos avaliando a determinação sequencial ou simultânea de elementos passam a ganhar destaque. Uns dos primeiros trabalhos que reportam a determinação simultânea de elementos utilizando a técnica de HR-CS GF AAS foi publicado por Santos *et al.*<sup>71</sup> em 2009. Os autores determinaram Cd e Fe em amostras de farinha utilizando a análise direta de sólidos, juntamente com o uso de modificadores permanentes W e Ir. A determinação simultânea foi possível pois o Cd (228,802 nm) e o Fe (228,726 nm) apresentam linhas analíticas próximas (dentro do mesmo intervalo espectral). No entanto, foram utilizadas temperaturas de pirólise ( $T_{pir}$ ) e  $T_{atom}$  específicas para cada elemento, já que o comportamento térmico dos mesmos é diferente. No mesmo ano, outro trabalho sobre determinação simultânea foi reportado por Dittert *et al.*<sup>72</sup>; os autores determinaram a concentração de Cr (357,868 nm) e Fe (358,120 nm) em amostras de petróleo *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta. Neste caso, por apresentarem linhas analíticas próximas (dentro do mesmo intervalo espectral) e comportamento térmico semelhante, foi possível utilizar as mesmas condições de análise, isto é, mesmas  $T_{pir}$  e  $T_{atom}$ .

Em 2010, Vignola *et al.*<sup>73</sup> determinaram, simultaneamente, Cd (228,802 nm) e Fe (228,726 nm) em amostras de resíduo doméstico (esgoto) *via* HR-CS GF AAS utilizando amostras em suspensão. Foram empregados os mesmos procedimentos descrito por Santos *et al.*<sup>71</sup>, no entanto, a principal diferença foi o preparo de amostra. As suspensões foram preparadas em meio ácido, com uma mistura de HF e HNO<sub>3</sub>. Os autores reportaram a formação de um espectro que poderia ser considerado uma interferência para determinação de Cd. No entanto, devido à alta resolução da técnica foi possível observar que o sinal analítico do Cd não foi influenciado pela interferência, ou seja, o sinal do Cd e da interferência estavam separados temporalmente.

Ainda em 2010, Dittert *et al.*<sup>74</sup> determinaram, simultaneamente, Co (240,674 nm) e V (240,725 nm) em amostras de petróleo *via* HR-CS GF AAS. Neste caso, os analitos apresentam linhas analíticas próximas e comportamento térmico semelhante. As amostras de petróleo foram simplesmente homogeneizadas em um banho ultra-sônico por 10 min; foi utilizado Pd como modificador químico. Já Quadros *et al.*<sup>75</sup> avaliaram, em 2010, amostras de petróleo no intuito de determinar Ni e V. As amostras foram preparadas em suspensão *via* adição de HNO<sub>3</sub>. Os resultados mostraram que devido ao comportamento térmico similar e por apresentarem linhas analíticas próximas, 305,432 e 305,633 nm, respectivamente, Ni e V puderam ser determinados simultaneamente em diferentes amostras de petróleo.

Em 2013, inúmeras aplicações podem ser encontradas referentes à determinação simultânea de elementos. Gómez-Nieto *et al.*<sup>76</sup> avaliaram amostras biológicas e determinaram, simultaneamente, Ni (232,003 nm) e Fe (232,036 nm) *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Neste trabalho, os autores reportam que um espectro de interferência foi corrigido através do uso do algoritmo de LSBC, permitindo assim analisar as amostras biológicas. Ainda em 2013, Resano *et al.*<sup>77</sup> desenvolveram um método para determinar simultaneamente Co (283,393/283,443 nm), Ni (283,455 nm), Fe (283,245 nm) e Pb (283,306 nm) em amostras de nanotubos de carbono *via* HR-CS GF AAS utilizando a análise direta de sólidos. Foi utilizado Pd como modificador químico e T<sub>pir</sub> e T<sub>atom</sub> de 800 e 2500 °C, respectivamente. No mesmo ano, Rello *et al.*<sup>78</sup> apresentaram o desenvolvimento de um método para determinação de Ti (319.200 nm) e Mo (319.397 nm), simultaneamente, em amostras de urina depositada em papel filtro. Os autores utilizaram a análise direta de sólidos através da técnica de HR-CS GF AAS. Foi utilizado Pt como modificador químico e T<sub>pir</sub> e T<sub>atom</sub> de 1400 e 2650 °C, respectivamente.

Poucos trabalhos são reportados utilizando a determinação sequencial de elementos utilizando forno de grafite como atomizador, provavelmente devido à necessidade de se determinar analitos com comportamento térmico completamente diferente. Um dos pioneiros a reportar um método envolvendo a determinação sequencial de elementos foi Duarte *et al.*<sup>79</sup>, em 2013. Neste trabalho, os autores reportaram o desenvolvimento de um método capaz de determinar os elementos Cd e Cr, sequencialmente, avaliando amostras de biomassa *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Isto só foi possível pois os analitos investigados apresentam comportamento térmico diferentes e linhas analíticas afastadas, em 228,802 nm para Cd e 357,869 nm para Cr (não aparecem dentro do mesmo intervalo espectral). Com isso, inicialmente ocorre a determinação do Cd, utilizando as  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 400 e 1500 °C, respectivamente; na sequencia, ocorre a troca de comprimento de onda e o Cr é determinado ( $T_{\text{atom}}$  de 2600 °C). Vale ressaltar, portanto, que o Cd e o Cr foram determinados com a mesma alíquota de amostra.

Outro trabalho que utiliza a determinação sequencial de elementos foi reportado por Krawczyk *et al.*<sup>80</sup>, em 2014. Os autores relataram o desenvolvimento de um método capaz de determinar Zn (213,857 nm) e Fe (248,327 nm), sequencialmente, *via* HR-CS GF AAS, em amostras de nanotubos de carbono. As amostras foram submetidas a um processo de extração por coluna de fase-sólida com HNO<sub>3</sub>. A solução extraída deste processo foi analisada diretamente, utilizando Mg, como modificador químico para Fe, e Pd/Mg, como modificador químico para Zn. No entanto, não foi reportado o efeito que diferentes concentrações ou mesmo a ausência de modificadores químicos teria sobre os sinais dos analitos. As  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  utilizadas para Zn foram 400 e 1300 °C, respectivamente; já para o Fe foram reportadas as temperaturas de 1100 e 2000 °C como  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$ , respectivamente. No caso do Fe, entretanto, não haveria necessidade de ser relatada a  $T_{\text{pir}}$ . Foram avaliados dois CRM de água (NIST SRM 1643e e ERM CA011b) para comprovar a exatidão do método, sendo os resultados encontrados estatisticamente idênticos àqueles certificados, com 95% de confiança (teste *t-Student*).

Em 2015, Zmozinski *et al.*<sup>81</sup>, baseados no método descrito por Duarte *et al.*<sup>79</sup>, determinaram sequencialmente Cd e Cr em amostras de taninos. As amostras foram avaliadas utilizando análise direta de amostras sólidas e utilizando  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 400 e 1500 °C para Cd (228,802 nm) e  $T_{\text{atom}}$  de 2500 °C para Cr (357,869 nm). Três CRM foram avaliados para comprovar a exatidão do método desenvolvido (NCS ZC 73014, NIST SRM 1575a e NCS

DC 73349); os resultados foram idênticos àqueles reportados com 95% de confiança, utilizando um teste estatístico (*t-Student*) de comparação.

Mais recentemente, em 2016, Almeida *et al.*<sup>82</sup> reportaram o desenvolvimento de um método analítico para determinar sequencialmente Mn e Cr em amostras de óleo vegetal e biodiesel *via* HR-CS GF AAS. Isto só é possível, visto que Mn e Cr apresentam comportamento térmico diferente e não apresentam linhas analíticas dentro do mesmo intervalo espectral: 279,482 nm para Mn e 357,869 nm para Cr. Foram utilizadas duas etapas de pirólise: uma em 350 e outra em 1300 °C; para atomização, as temperaturas empregadas foram 1900 e 2500 °C para Mn e Cr, respectivamente. Os autores também relataram o uso de Mg, como modificador químico em solução, para evitar perdas de Cr durante a pirólise. O único preparo de amostra utilizado foi uma diluição com o solvente metil-isobutil-cetona. Para avaliação da exatidão, testes de recuperação foram realizados e os resultados apresentaram variação de 79 a 108% para Mn e de 79 a 115% para Cr.

Ainda em 2016, Adolfo *et al.*<sup>83</sup> desenvolveram um método capaz de determinar simultaneamente Ni e Co em amostras de vitamina B12 *via* HR-CS GF AAS utilizando a análise direta de amostras sólidas. Os comprimentos de onda empregados foram: 231,096 nm para o Ni e 231,136 nm para o Co. Como as analitos apresentam comportamento térmico semelhante, foram empregadas 1100 e 2500 °C como  $T_{pir}$  e  $T_{atom}$ , respectivamente. Para avaliação da exatidão dos resultados, testes de recuperação foram realizados; os resultados destes testes variaram entre 107 e 113% para Ni e 84 e 106% para Co.

De Babos *et al.*<sup>84</sup>, em 2016, determinaram Mo e Ni, simultaneamente, em amostras de plantas, utilizando Co como padrão interno, *via* HR-CS GF AAS; as amostras foram analisadas diretamente, ou seja, com um mínimo de preparo. O uso de Co como padrão interno proporcionou a minimização dos efeitos da matriz sobre o sinal analítico do Ni. Os comprimentos de onda empregados para Mo, Ni e Co foram 313,259, 313,410 e 313,221 nm, respectivamente. A combinação da determinação simultânea com o uso do padrão interno foi possível já que os analitos apresentam comportamento térmico semelhante e linhas analíticas dentro do mesmo intervalo espectral. As  $T_{pir}$  e a  $T_{atom}$  utilizadas foram de 1600 e 2600 °C, respectivamente. Seis CRM de plantas foram avaliados e os resultados encontrados foram concordantes com aqueles certificados, dentro de um nível de confiança de 95%, utilizando uma avaliação estatística (*t-Student*).

Neste mesmo ano, Leão *et al.*<sup>85</sup> apresentaram o desenvolvimento de um método analítico para determinação simultânea de Cd, Fe e Sn em amostras de comida enlatada *via*

HR-CS GF AAS. Foram utilizadas as linhas analíticas de 228,802 nm para Cd, 228,725 nm para Fe e 228,668 nm para Sn. Os autores relataram o uso de uma mistura de Pd e Mg como modificador químico em solução. Deste modo, foram empregadas  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 700 e 2550 °C, respectivamente. Para verificação de exatidão dos resultados, um CRM de folhas foi avaliado e os resultados encontrados foram concordantes com aqueles certificados para Cd e Fe. Visto que o CRM não apresenta valor certificado para Sn, as concentrações obtidas para este elemento foram comparadas as aquelas determinadas por outra técnica (espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado - ICP OES). As comparações mostraram resultados satisfatórios (teste *t-Student* ao nível de confiança de 95%).

Em um dos últimos trabalhos publicados, abordando a determinação simultânea de elementos, Santos *et al.*<sup>86</sup> avaliaram a presença de Cu e Fe em amostras de farinha *via* HR-CS GF AAS utilizando análise direta de amostras sólidas. As linhas analíticas empregadas foram de 217,894 nm para Cu e 217,812 nm para Fe. As  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  utilizadas foram 1400 e 2400 °C, respectivamente. Dois CRM foram utilizados para verificar a exatidão dos resultados e, ao nível de 95% de confiança (teste *t*), os valores encontrados estavam de acordo com aqueles certificados.

Pelo número de trabalhos reportados na literatura nos últimos anos, pode-se observar que a determinação multielementar *via* HR-CS GF AAS, juntamente com a análise direta de amostras, está se tornando uma ferramenta decisiva em termos de minimizar custos, tempo de análise, contaminações e resíduos gerados.

#### **1.4.2 Utilizando a HR-CS MAS**

Os primeiros trabalhos que relatam a observação de espectros estruturados correspondentes à moléculas diatômicas, utilizando a técnica de HR-CS MAS, também datam do início do desenvolvimento da técnica. No entanto, estes estudos tratavam estes espectros como interferências.

O primeiro trabalho que reporta a determinação de absorção molecular, utilizando a HR-CS MAS, foi publicado em 2005. Huang *et al.*<sup>87</sup> desenvolveram um método para determinar a concentração total de S em amostras de vinho utilizando a absorção molecular do CS (258,056 nm). Os autores relataram a análise direta das amostras de vinho utilizando a HR-CS FMAS, com o emprego da chama de ar-acetileno. Para verificar a exatidão dos



resultados, uma comparação com aqueles obtidos por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) foi realizada. Huang *et al.*<sup>88</sup>, no ano seguinte, publicaram um trabalho sobre possíveis interferências sobre a molécula de CS, assim como o uso de outras linhas analíticas, 257,593 e 258,056 nm, utilizando a HR-CS FMAS. Os resultados mostraram que Ag, Al, Bi, Ca, Cr, Cu, Ga, K, Mg, Na, Ni e Zn não causaram quaisquer interferências sobre a molécula de CS, considerando os dois comprimentos de onda estudados. Já o Pb, acima de 2000 mg L<sup>-1</sup>, pode interferir no sinal analítico da molécula de CS.

Em 2006, Huang *et al.* relataram a determinação de F<sup>89</sup> e Cl<sup>90</sup> através das moléculas diatômicas de GaF e InCl, respectivamente, *via* HR-CS FMAS. Os autores relataram que o espectro de absorção molecular de GaF foi avaliado entre 211 e 214 nm, com a linha analítica mais intensa em 211,248 nm; foi relatada ainda a ausência de qualquer interferência neste intervalo espectral. Utilizando este comprimento de onda e uma solução com excesso de Ga, foi possível quantificar a concentração de F em um CRM. O valor encontrado estava de acordo com aquele certificado. Para a determinação de Cl, a molécula de InCl foi avaliada na linha analítica de 267,240 nm. Para tal, uma solução com Cl e excesso de In foi avaliada em uma chama de ar-acetileno. Interferências sobre o sinal de InCl foram investigadas; os autores relataram que os ácidos: sulfúrico, fosfórico e nítrico, assim como Cu e Ga, podem influenciar o sinal analítico da molécula de InCl. Para avaliar a exatidão dos resultados, três CRM foram usados e os valores de concentração de Cl encontrados foram concordantes com os certificados (95% de confiança através do teste *t-Student*).

Heitmann *et al.*<sup>91</sup>, em 2006, apresentaram o desenvolvimento de diferentes métodos analíticos para determinação de F, Cl, S e P através das moléculas diatômicas de GaF, AlCl, CS e PO utilizando HR-CS GF MAS. As linhas analíticas empregadas para cada molécula foram: 211,248 nm para GaF, 261,420 nm para AlCl, 258,056 nm para CS e 246,400 nm para PO. Os autores relataram a necessidade de empregar Zr como modificador permanente para auxiliar na obtenção de GaF, AlCl e CS; no caso desta última, foi utilizado também metano como gás auxiliar. Para a molécula de PO, não foi necessário nenhum tipo de modificador químico. As  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$  usadas para avaliação de cada molécula foram respectivamente de: 500 e 1400 °C para GaF, 500 e 2200 °C para AlCl, 500 e 2500 °C para PO e 700 e 2400 °C para CS. Deste modo, a concentração de F, Cl, S e P foi determinada em diferentes CRM e os valores encontrados estavam de acordo com os certificados.

Em 2008, Huang *et al.*<sup>92</sup> desenvolveram um método para determinar diferentes formas de S (SO<sub>2</sub> livre e S total) em amostras de vinho *via* HR-CS FMAS. A molécula diatômica de CS (258,056 nm) foi avaliada em uma chama de ar-acetileno, sendo que diferentes pré-tratamentos foram empregados para a determinação das formas de S. As concentrações de S encontradas pelos autores foram comparadas com aquelas obtidas por outros métodos já pré-estabelecidos na literatura; os resultados desta comparação foram concordantes. Ainda no mesmo ano, Huang *et al.*<sup>93</sup> reportaram a possibilidade de determinar de Br através das moléculas diatômicas de AlBr e CaBr *via* HR-CS GF MAS. Os comprimentos de onda investigados foram os de 278,914 nm para AlBr e 625,315 nm para CaBr. Os autores verificaram que a molécula de AlBr ( $T_{\text{pir}} = 900 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{vap}} = 2100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) foi influenciada por ácidos inorgânicos (nitríco, sulfúrico e fosfórico), já o sinal analítico da molécula de CaBr ( $T_{\text{pir}} = 1400 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{vap}} = 1800 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), foi afetado pela presença de Cl<sup>-</sup>, Al<sup>+3</sup>, K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>. Foi observado, também, que o emprego de HF forma um intenso espectro de CaF. Uma amostra de sal e um medicamento foram analisados e os resultados comparados com aqueles obtidos por outro método, dispersão de comprimentos de onda por fluorescência de raios-X (WD-XFA); os resultados das análises obtidas por ambos os métodos foram concordantes.

Em outro trabalho, em 2009, Huang *et al.*<sup>94</sup> desenvolveram um método para determinação de I utilizando a molécula de BaI *via* HR-CS GF MAS. Inicialmente, diferentes formações de moléculas diatômicas de I foram investigadas: AlI, GaI, InI, TlI, MgI, CaI, SrI e BaI. Os sinais analíticos mais intensos e com melhor separação das finas estruturas rotacionais foram obtidos para a molécula de BaI ( $T_{\text{pir}} = 600 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{vap}} = 2000 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), onde o comprimento de onda de 538,308 nm foi selecionado. Os autores relataram que o emprego de altas concentrações de Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, Fe, K e Na reduziu significativamente o sinal analítico de BaI. Por outro lado, ao avaliar outras formas de I (padrões de I, IO<sub>3</sub><sup>-</sup> e I-orgânico) foi verificada, sem qualquer diferença, a formação e quantificação da molécula de BaI. No ano seguinte, Huang *et al.*<sup>95</sup> reportaram um método para determinar N através da molécula de NO *via* HR-CS MAS. Os autores investigaram o sinal analítico da molécula de NO utilizando uma chama de ar-acetileno e verificaram a presença do mesmo dentro do intervalo de 200 e 250 nm. Com estas informações, foram realizadas determinações de N, através da molécula de NO, no forno de grafite utilizando a linha analítica de 215,360 nm e empregando como  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$  300 e 700 °C, respectivamente. Deste modo, diferentes CRM foram avaliados e os valores encontrados para N foram concordantes com aqueles certificados ao nível de confiança de 95% (teste *t-Student*).

Em 2010, Ferreira *et al.*<sup>96</sup> determinaram S em amostras biológicas *via* HR-CS GF MAS e análise direta de sólidos. Plataformas recobertas como W (modificador permanente) e Pd em solução (modificador químico), assim como  $T_{\text{pir}}$  de 900 °C e  $T_{\text{vap}}$  de 2500 °C, foram empregados para obtenção da molécula de CS em 258,033 nm. Cinco CRM foram avaliados nestas condições e os valores encontrados estavam de acordo com aqueles certificados (teste *t-Student* – 95% de confiança). Já Gleisner *et al.*<sup>97</sup>, reportaram um método para determinação de F através da molécula de GaF *via* HR-CS GF MAS. O comprimento de onda utilizado foi 211,248 nm e foi relatado o uso de Zr como modificador permanente e uma mistura de Pd e Zr como modificadores químicos em solução. No entanto, os melhores resultados para formação da molécula de GaF foram atingidos com o uso de uma mistura adicional de acetato de sódio e Ru. Deste modo, foram obtidas como  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$  550 e 1550 °C, respectivamente. Dois CRM foram avaliados para verificar a exatidão dos resultados, e a concentração de F obtida foi concordante com aquela certificada (nível de confiança de 95%, através do teste *t-Student*).

Em 2011, Ferreira *et al.*<sup>98</sup> desenvolveram um método analítico para determinar P e K em amostras de fertilizante líquido usando a técnica de HR-CS FMAS. Neste contexto, diferentes linhas analíticas para PO e K foram investigadas no intuito de aumentar a faixa linear de trabalho. Os autores mostraram que utilizando os comprimentos de onda de 327,040 nm para PO e 404,422 nm para K foi possível determinar P e K na faixa de concentração de 100-5000 e 50-1000 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. As mesmas amostras foram analisadas por outras técnicas (ICP OES, por exemplo) e os resultados foram coerentes com aqueles obtidos por HR-CS FMAS. No mesmo ano, Virgilio *et al.*<sup>99</sup> apresentaram um método para determinar a concentração total de S em fungicidas e fertilizantes *via* HR-CS FMAS. Foram avaliadas as moléculas de CS e SH em diferentes comprimentos de onda. No entanto, os autores reportaram que a molécula de SH era suscetível a interferências espectrais, apresentando, também, resultados com baixa precisão. Deste modo, as amostras foram avaliadas utilizando a molécula de CS em 257,595, 257,958 e 258,056 nm; sendo que este último foi o que apresentou a maior faixa linear de trabalho. Testes de recuperação foram realizados e apresentaram valores entre 84 e 109%. Kowalewska<sup>100</sup>, neste mesmo ano, reportou a determinação de S, através da molécula de CS, em amostras de petróleo *via* HR-CS MAS utilizando ambos chama e forno de grafite. Empregando o comprimento de onda de 258,056 nm, a autora relatou a necessidade do uso de Pd/Mg como modificadores químicos em solução quando a análise foi realizada em forno de grafite. A chama pôde proporcionar

uma análise mais simples, no entanto, uma menor sensibilidade foi observada. A exatidão dos resultados foi avaliada através da análise de um CRM e a concentração de S encontrada foi concordante com a certificada para chama e forno de grafite.

Outro trabalho abordando a determinação de S foi reportado por Baysal e Akman<sup>101</sup>, em 2011. Utilizando o comprimento de onda de 258,056 nm (CS), os autores analisaram amostras de carvão, previamente submetidas à decomposição assistida por microondas, *via* HR-CS FMAS. Não foram observadas interferências e a exatidão do resultado foi comprovada pela análise de CRM. Já os autores Gleisner *et al.*<sup>102</sup> e Morés *et al.*<sup>103</sup>, reportaram artigos sobre a determinação de F em pasta de dente e amostras de chá, respectivamente, *via* HR-CS GF MAS. Segundo Gleisner *et al.*<sup>102</sup>, a determinação de F foi realizada através da molécula de GaF (211,248 nm) utilizando Zr e Pd como modificadores e  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$  de 550 e 1550 °C, respectivamente. As amostras de pasta de dente simplesmente foram diluídas e os resultados foram coerentes com aqueles obtidos por cromatografia. Já Morés *et al.*<sup>103</sup>, utilizaram a molécula de CaF (606,440 nm), com  $T_{\text{pir}}$  de 750 °C e  $T_{\text{vap}}$  de 2250 °C. Segundo os autores, a vantagem do uso do Ca é que ele age de duas formas: como reagente-formador da molécula e como modificador químico. Foi empregada a análise direta de amostras sólidas e a comprovação da exatidão dos resultados foi obtida a partir da avaliação de um CRM de chá.

O primeiro trabalho que aborda a determinação molecular para quantificação de um metal foi apresentado por Aramendía *et al.*<sup>104</sup>, em 2011. O objetivo foi a determinação de Al através da absorção da molécula AlF (227,477 nm) em amostras de sangue. Para tal, os autores relataram a análise direta das amostras *via* HR-CS GF MAS, utilizando uma solução de NH<sub>4</sub>F.HF para gerar a molécula de AlF e auxiliar a remoção da matriz. Este método foi aplicado para fins forenses no intuito de utilizar o Al como marcador de afogamento, no entanto, os autores relataram que mais testes precisavam ser realizados.

Ozbek e Akman<sup>105</sup>, em 2012, reportaram um trabalho para determinação de F, através da molécula de SrF, utilizando a HR-CS GF MAS. O comprimento de onda de 651,187 nm foi utilizado e não foi necessário a aplicação de modificador químico. Foram empregadas as temperaturas de 800 e 2000 °C como  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$ , respectivamente. A avaliação de um CRM mostrou que resultados concordantes foram encontrados. Estes mesmos autores<sup>106</sup>, publicaram em 2013, uma proposta de mecanismos para formação da molécula de SrF. Em 2012, Fechetia *et al.*<sup>107</sup> apresentaram o desenvolvimento de um método analítico para determinar Cl em amostras de alimentos *via* HR-CS GF MAS. Neste sentido, os autores

fizeram uso linha analítica de 261,418 nm da molécula de AlCl. As amostras foram submetidas a um procedimento de decomposição ácida com HNO<sub>3</sub>. Para as análises as T<sub>pir</sub> e T<sub>vap</sub> utilizadas foram de 500 e 2200 °C, respectivamente. CRM foram empregados, comprovando a exatidão dos resultados obtidos.

A partir deste momento, devido a grande aplicabilidade da técnica de HR-CS MAS, é possível observar um grande aumento no número de trabalhos publicados envolvendo a determinação molecular. Em 2013, Baumbach *et al.*<sup>108</sup>, Mior *et al.*<sup>109</sup>, Ozbek e Akman<sup>110</sup> e Nakadi *et al.*<sup>111</sup> apresentaram trabalhos sobre a determinação de S utilizando a molécula de CS. As principais diferenças entre cada um dos estudos é o comprimento de onda utilizado, a amostra analisada, o uso ou não de pré-tratamento e o tipo de modificador químico empregado. Neste mesmo ano, Limburg e Einax<sup>112</sup> e Flóres e Resano<sup>113</sup> reportaram estudos sobre a aplicação da absorção da molécula de CaBr (625,315 nm) para determinar Br em amostras de solvente orgânico e matérias plásticas, respectivamente. Os dois trabalhos relataram a necessidade de empregar Pd como modificador químico em solução, sendo que no método apresentado por Limburg e Einax<sup>112</sup> Zr foi utilizado como modificador permanente. Ainda em 2013, um trabalho abordando a determinação de F em amostras de leite, utilizando a molécula de CaF (606,440 nm), foi reportado por Ozbek e Akman<sup>114</sup>. Foi relatado o emprego de Zr como modificador permanente e T<sub>pir</sub> e T<sub>vap</sub> de 700 e 2250 °C, respectivamente. A exatidão dos resultados foi comprovada utilizando um CRM de água residual.

Em 2014, seis trabalhos abordando a determinação de F foram publicados. Neste contexto, a molécula de CaF (606,440 nm) foi utilizada por Borges *et al.*<sup>115</sup> e Huang *et al.*<sup>116</sup> para avaliar amostras de plantas e óxido de nióbio, respectivamente, *via* HR-CS GF MAS; sendo que para Huang *et al.*<sup>116</sup> foi necessário o emprego de Zr como modificador permanente. Acker *et al.*<sup>117</sup>, avaliaram a formação de moléculas de AlF *via* HR-CS FMAS, utilizando uma chama de óxido nitroso-acetileno, e relataram que esta molécula é suscetível a inúmeras interferências. Em outro trabalho, Würtenberger e Gust<sup>118</sup>, determinaram F em medicamentos, através da molécula de GaF (211,280 nm), utilizando a HR-CS GF MAS. Já Ozbek e Akman<sup>119</sup>, avaliaram amostras de água e leite através da molécula de BaF *via* HR-CS GF MAS combinando a absorção molecular de dois comprimentos de onda, 495,088 e 495,263 nm (monitorados simultaneamente).

Em 2014, diferentes métodos para determinação de Br *via* HR-CS GF MAS foram publicados; Guduz e Akman<sup>120</sup> utilizando a molécula de SrBr (651,058 nm) e Pereira *et al.*<sup>121</sup> a molécula de CaBr (625,315 nm). Ambos os autores verificaram a necessidade de empregar

Zr como modificador permanente. Os respectivos métodos foram aplicados com sucesso para determinação de Br em amostras de vinho, medicamentos e carvão. Em outro trabalho, Pereira *et al.*<sup>122</sup> apresentaram o desenvolvimento de um método para determinação de Cl, através da molécula de SrCl (635,862 nm), *via* HR-CS GF MAS. Foi reportado o uso Zr, como modificador permanente, e Pd como modificador químico em solução. CRM foram utilizados para comprovação da exatidão dos resultados.

Brandão *et al.*<sup>123</sup> (2014) reportaram a determinação de nitrito e nitrato em amostras de águas subterrâneas. A molécula de NO foi avaliada *via* HR-CS GF MAS no comprimento de onda de 215,360 nm; Ca foi utilizado como modificador químico. As duas formas foram separadas utilizando HCl, que suprime o sinal analítico do nitrito; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi empregado para converter nitrito em nitrato para determinação da concentração total de NO, sendo, então, o nitrato determinado por diferença. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos por cromatografia iônica, sendo considerados estatisticamente idênticos, ao nível de 95% de confiança (*t-Student*). Bechlin *et al.*<sup>124</sup>, propuseram a determinação de N, P e K em fertilizantes utilizando a HR-CS FMAS. Para isso, foram empregadas as moléculas de NO e PO, em 215,360 e 247,620 nm, respectivamente, e a linha analítica de 404,722 nm para K. Técnicas comparativas e a análise de CRM comprovaram a exatidão dos resultados.

Em 2014, trabalhos abordando a determinação de S foram reportados. Neste intuito, Nakadi *et al.*<sup>125</sup>, Gunduz e Akman<sup>126</sup> e Zambrzycka *et al.*<sup>127</sup> e avaliaram a molécula de CS e com sucesso desenvolveram métodos analíticos para determinar S em amostras de diesel, alimentos, nozes e frutas secas. Para que este objetivo fosse atingido Nakadi *et al.*<sup>125</sup> e Gunduz e Akman<sup>126</sup> utilizaram o forno de grafite e Zambrzycka *et al.*<sup>127</sup> fizeram uso da chama. Em outro trabalho, Baumbach e Einax<sup>128</sup>, determinaram S utilizando a molécula de SnS (271,578 nm) *via* HR-CS GF MAS. Ir como modificador permanente e Pd como modificador químico em solução foram utilizados. Com o uso da análise direta, três CRM foram avaliados e os resultados encontrados foram concordantes com os certificados (teste *t-Student*).

Ao longo do ano de 2015, três trabalhos foram publicados relatando a determinação de S *via* HR-CS MAS. Ozbek e Baysal<sup>129</sup>, Gunduz e Akman<sup>130</sup> e Huber *et al.*<sup>131</sup> avaliaram a molécula de CS (258,056 nm) em diferentes matrizes: alimentos (chama), vegetais e diesel (forno de grafite), respectivamente. Os três métodos propostos se mostraram eficazes, com boa precisão e exatidão, cumprindo seus objetivos. Em outros estudos, Ozbek e Akman<sup>132</sup> e Machado *et al.*<sup>133</sup>, determinaram a concentração de F em amostras de carvão e vinho,

respectivamente, *via* HR-CS GF MAS. Ambos os métodos utilizaram a absorção da molécula de CaF no comprimento de onda de 606,440 nm. As análises de uma série de CRM demonstraram boa exatidão. Em 2015, Pereira *et al.*<sup>134</sup> reportaram o desenvolvimento de um método para determinação de Cl, através da molécula de SrCl, em amostras de carvão *via* HR-CS GF MAS. O emprego de Zr, como modificador permanente, permitiu o monitoramento da molécula na linha analítica de 635,862 nm sem qualquer interferência. Novamente, foi feito o uso de CRM para comprovar a exatidão dos resultados.

Mais recentemente, em 2016, Ozbek e Akman<sup>135</sup> e Andrade-Capente *et al.*<sup>136</sup>, relataram métodos analíticos para determinar S, através da molécula de CS (258,056 nm), *via* HR-CS FMAS. As amostras investigadas foram vinagres, a albumina e a L-cisteína, e as análises ocorreram empregando uma chama redutora de ar-acetileno. Em outro trabalho, Ozbek e Baysal<sup>137</sup>, realizaram a determinação de S, avaliando a molécula de CS, em amostras de partículas de poeira *via* HR-CS GF MAS. Utilizando a mesma técnica, Cadorim *et al.*<sup>138</sup>, desenvolveram um método para determinar S em amostras de petróleo, empregando a molécula de SnS (271,624 nm). O uso de Pd como modificador químico permitiu a análise das amostras na forma de micro-emulsão, utilizando 600 e 2000 °C como  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$ , respectivamente. A análise de dois CRM de petróleo comprovou a exatidão dos resultados.

Huang *et al.*<sup>139</sup>, em 2016, reportaram o desenvolvimento de um método para determinar P utilizando a molécula de P<sub>2</sub>. Esta determinação só foi possível graças às possibilidades apresentadas pela HR-CS GF MAS. Os autores verificaram a existência de finas estruturas rotacionais da molécula de P<sub>2</sub> entre 193 nm e 245 nm; sendo a linha analítica de 204,205 nm a mais intensa. O uso de Zr, como modificador permanente, e borato, como modificador químico em solução, foi essencial para formação da molécula diatômica. Interferências foram observadas com o uso de ácido nítrico ou sulfúrico. Wang *et al.*<sup>140</sup>, determinaram P, através da molécula de PO, *via* HR-CS FMAS. O comprimento de onda empregado foi de 327,040 nm para análise de amostras de ligas metálicas de ferro-vanádio. A exatidão dos resultados foi comprovada com a análise de CRM.

Borges *et al.*<sup>141</sup> e Ozbek e Akman<sup>142,143</sup> reportaram diferentes métodos analíticos para determinação de F em amostras de cosméticos, farinhas e alimentos infantis *via* HR-CS GF MAS. Ambos os trabalhos utilizaram a absorção da molécula de CaF na linha analítica de 606,440 nm. CRM foram avaliados e os resultados foram concordantes com aqueles certificados. Em 2016, Ozbek e Akman *et al.*<sup>144</sup> determinaram Cl, através da molécula de SrCl, em amostras de leite *via* HR-CS GF MAS. O sucesso das análises foi atingido

utilizando Zr, como modificador permanente, e  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{vap}}$  de 600 e 2300 °C, respectivamente. Um CRM foi empregado para avaliar a exatidão dos resultados e os dados obtidos foram coerentes com aqueles certificados.

Por fim, fica clara a grande aplicabilidade proporcionada pela técnica de HR-CS MAS, sendo esta uma nova área de pesquisa que vem ganhando cada vez mais destaque na determinação de elementos, principalmente não-metals, utilizando a absorção de moléculas diatômicas formadas por estes analitos.

## 1.5 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

O crescente e contínuo desenvolvimento da HR-CS AAS e da HR-CS MAS é um fato. Apesar da literatura apresentar, como já foi demonstrado, diversas aplicações para estas técnicas, ainda existem inúmeras matrizes para serem exploradas. É importante ressaltar, também, que novas moléculas podem ser exploradas, para avaliação de sua estabilidade, sensibilidade e aplicabilidade, o que complementaria o conhecimento desta área. Não obstante, o desenvolvimento de métodos analíticos alternativos, para analisar amostras complexas, pode trazer ganhos fundamentais em termos de tempo de análise, custos, geração de resíduos, etc. É neste sentido que o emprego das técnicas de HR-CS AAS e MAS apresentam destaque: I) pela possibilidade da análise direta de amostras sólidas utilizando o forno do grafite; II) por permitirem, devido ao uso de uma fonte de radiação contínua, o emprego de qualquer comprimento de onda entre 190 e 900 nm; III) pela realização de determinações multielementares de forma simples e rápida; IV) pela possibilidade de observar e corrigir interferências espectrais; V) por possibilitar a observação de finas estrutura rotacionais oriundas de moléculas diatômicas, proporcionando a determinação dos metais ou não-metals formadores destas moléculas.

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar as potencialidades das técnicas de HR-CS AAS e MAS no desenvolvimento de novos métodos analíticos para determinação de metais e não-metals em diferentes matrizes. Neste sentido, foi investigada a presença e quantificação de: Cd, Cr, Fe, Al e F em amostras de solo; Mo e Ni em amostras de fertilizante e vinho; Si em amostras de plantas e biomassa. Em todos os casos foi dada preferência para a análise direta de amostras sólidas (solos, fertilizantes, plantas e biomassa) e líquidas (vinho).



### 1.5.1 Determinação de Cd, Cr, Fe, Al e F em solos

O solo é um componente do ecossistema terrestre, composto por matéria orgânica e/ou mineral, influenciado por fatores como: origem, topografia, clima (temperatura e umidade) e ação de microrganismos e antropogênica<sup>145,146</sup>. Considerado um recurso natural não renovável, é de suma importância para a humanidade, e sua qualidade determina a produtividade e sustentabilidade dos sistemas agrícolas<sup>147</sup>.

A qualidade do solo é definida de maneira semelhante na literatura por diversos autores. De acordo com a *Soil Science Society of America*<sup>148</sup>, a qualidade do solo é definida pela sua capacidade de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade do meio ambiente e promover a sanidade das plantas e animais. Similarmente, Parr *et al.*<sup>149</sup> definiram a qualidade do solo como sua capacidade de produzir culturas nutricionais de maneira sustentável a longo prazo e maximizar a saúde humana e animal, sem danificar o meio ambiente.

Conservar ou manter a boa qualidade do solo não somente aumenta a produtividade das culturas, mas também mantém a qualidade do meio ambiente e, conseqüentemente, a conserva a saúde das plantas, dos animais e dos seres humanos<sup>150,151</sup>. Esse assunto é muito complexo devido ao envolvimento de fatores como clima, solo, planta e o fator antropogênico, assim como as interações entre os mesmos. Porém, com a adoção de algumas práticas de manejo de solo e planta é possível reduzir a degradação do solo e manter a sua qualidade em um nível desejável. Dentre essas práticas de manejo mais comuns, podemos considerar a manutenção do teor de matéria orgânica no solo, o uso de calagem em solos ácidos, o aumento da eficiência de uso da água e de fertilizante minerais, entre outras<sup>152</sup>.

No entanto, estudos mostram que a concentração de alguns metais vem aumentando em solos agriculturáveis, principalmente, devido ao uso descontrolado de fertilizantes, pesticidas e herbicidas<sup>153</sup>. Os elementos potencialmente tóxicos podem ser inseridos na cadeia alimentar através de plantas que são cultivadas em solos contaminados. Ao serem ingeridos por animais e humanos, estes metais podem provocar uma série de problemas de saúde e, em alguns casos, até a morte<sup>154,155</sup>.

Vale ressaltar que a relação entre a presença de minerais no solo e suas respectivas absorções pelas plantas e microorganismos é extremamente complexa, dependendo da biodisponibilidade destes elementos e da espécie de planta<sup>156</sup>. No entanto, alguns trabalhos e

diretrizes reportam faixas de concentração para alguns metais, principalmente os potencialmente tóxicos, que podem ser encontradas no solo.

O Cd, por exemplo, conhecido por sua característica toxicológica tanto em plantas como animais, é uma importante fonte de contaminação em virtude de sua longa persistência no solo, o que facilita sua bioacumulação. Um solo pode estar contaminado com Cd quando sua concentração está acima de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ , segundo diretrizes da Comunidade Européia<sup>156</sup>. Em geral, espera-se que a maioria dos solos não contaminados contenha quantidade de cádmio  $<1 \text{ mg kg}^{-1}$ , segundo Alloway<sup>156</sup> e Tóth *et al.*<sup>157</sup>. Dentre as principais fontes de contaminação de Cd no solo são as ações antropogênicas, destacando as indústrias metalúrgicas e eletrônicas, a queima de combustíveis fósseis e também o uso excessivo de insumos agrícolas (fertilizantes e agrotóxicos)<sup>156,157</sup>. No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) apresenta uma Resolução (420/2009)<sup>158</sup> que orienta valores permissíveis para concentração de metais potencialmente tóxicos no solo, sendo relatado, para o Cd, o valor de  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  em solos utilizados para agricultura.

Outro elemento importante de ser monitorado e também conhecido pelo seu potencial toxicológico em plantas e animais é o Cr. Por ser um metal bioacumulável ao longo da cadeia alimentar, sua presença em altas concentrações pode ocasionar danos a proteínas e ácidos nucléicos do nosso organismo, com alto potencial cancerígeno<sup>156</sup>. Vale destacar que a toxicidade do Cr também está ligada com sua espécie química,  $\text{Cr}^{+3}$  e  $\text{Cr}^{+6}$ , sendo este último considerado danoso a saúde humana mesmo em baixas concentrações. A concentração natural de Cr em solos pode variar de 1 a até  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ , segundo a Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA)<sup>159</sup>. O Canadá, em sua legislação<sup>160</sup>, orienta como valor máximo de Cr em solos agriculturáveis  $64 \text{ mg kg}^{-1}$ . No Brasil, a CONAMA<sup>158</sup> recomenda que solos utilizados para agricultura devem apresentar concentração de Cr máxima de até  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ , mesmo valor reportado por Tóth *et al.*<sup>157</sup>.

As concentrações de Fe e Al no solo, alcançam a ordem de percentagem, podendo variar entre  $0,2 - 55\%$  ( $m_{\text{Fe}}/m_{\text{solo}}$ ) e  $1 - 30\%$  ( $m_{\text{Al}}/m_{\text{solo}}$ ), respectivamente<sup>161,162</sup>. Enquanto o Al pode ser considerado um elemento potencialmente tóxico para plantas, dependendo de sua concentração, forma, e disponibilidade, o Fe é considerado essencial para a vida dos vegetais, principalmente por ser um elemento fundamental na fotossíntese<sup>163-165</sup>. Desta forma, um solo com baixa concentração Fe pode causar problemas metabólicos e de crescimento nos vegetais<sup>166</sup>. Por outro lado, o Al, quando em sua forma solúvel, pode diminuir a absorção de K, Ca, Mg, Cu, Zn e Fe pelas plantas, além de reduzir o crescimento de suas raízes e folhas<sup>162</sup>.

Não existe um consenso, entre os pesquisadores, sobre um valor limite, mínimo para o Fe e máximo para Al, que possa ser encontrado nos solos, pois estes valores podem variar de acordo com a espécie de planta avaliada<sup>161,162</sup>.

O F por sua vez, está naturalmente presente no solo na faixa de concentração de 10 - 500 mg kg<sup>-1</sup>. As principais fontes de contaminação são as indústrias de fundição de Al e Zn, as termoelétricas à base de combustíveis fósseis (carvão), as indústrias de cimento, cerâmica e vidro, as fábricas de fertilizante, etc.<sup>167-172</sup>. Blagojević *et al.*<sup>167</sup>, Szostek *et al.*<sup>168</sup>, Loganathan *et al.*<sup>170</sup> e Patel *et al.*<sup>171</sup> verificaram que a concentração de F aumenta significativamente nas proximidades de algumas destas indústrias. Mais, Loganathan *et al.*<sup>172</sup> também observaram que a concentração de F aumentou em solos submetidos a aplicação contínua de fertilizantes. O F absorvido pelas plantas tem efeito cumulativo, principalmente em suas folhas, causando a necrose das mesmas e, em alguns casos, até a morte da planta<sup>173-175</sup>. A legislação brasileira não recomenda nenhum valor limite para a concentração máxima de F em solos.

Neste sentido, a análise dos solos pode fornecer informações cruciais no intuito de manter o solo com boas condições para as práticas agrícolas ou mesmo para a sobrevivência das plantas. Sabendo da alta complexidade que o solo possui, inúmeros métodos abordando a determinação de Cd, Cr, Fe, Al e F nestas amostras, utilizando as técnicas de ICP OES e ICP-MS, podem ser encontrados na literatura.

Considerando alguns dos trabalhos que envolvem as técnicas analíticas com plasma: Almeida e Vasconcelos<sup>176</sup>, em 2003, determinaram a concentração de 47 elementos, entre eles Cd, Cr, Fe e Al, em amostras de solo, mosto e vinho tinto por ICP-MS. Neste trabalho, os autores submeteram as amostras de solo a um procedimento de decomposição assistida por microondas combinado com um sistema de radiação UV; o ácido utilizado foi o HNO<sub>3</sub>. A concentração dos 47 elementos foi determinada nas diferentes amostras e, também, em um CRM de solo e os resultados encontrados foram coerentes com os certificados. Os autores compararam, ainda, os resultados determinados por ICP-MS com aqueles encontrados por LS AAS com chama (Al) e forno de grafite (Cd e Cr); esta comparação mostrou variações de 2 a 12% entre os resultados obtidos das técnicas. Em outro trabalho, Tighe *et al.*<sup>177</sup>, em 2004, determinaram a concentração de 18 elementos (incluindo Cd, Cr, Fe e Al) em solos, comparando diferentes métodos de decomposição de amostra, *via* ICP OES. Os autores avaliaram o uso da decomposição assistida por microondas com solução de HCl/HNO<sub>3</sub> e apenas com solução de HNO<sub>3</sub>. Avaliaram também, o uso das soluções HCl/HNO<sub>3</sub> e HNO<sub>3</sub> e em bloco digestor com frascos abertos. Um CRM foi utilizado para comprovar a eficiência

das decomposições. Considerando as concentrações obtidas para os elementos 18, avaliando sete amostras de solo e um CRM, foi observado que a decomposição assistida por microondas utilizando HCl/HNO<sub>3</sub>, forneceu os melhores resultados.

Em 2012, Petrotou *et al.*<sup>178</sup> avaliaram a presença de 32 elementos em 38 amostras de solo, obtidas na Grécia, *via* ICP OES (Al, Cr e Fe) e ICP-MS (Cd). As amostras investigadas foram coletadas em locais próximos a indústrias; após serem secas, as amostras foram submetidas a um procedimento de decomposição ácida em bloco digestor com adição de HClO<sub>4</sub> e HF. Para avaliação da exatidão dos resultados dois CRM de solo foram investigados e os resultados encontrados variaram de 90 a 105% dos certificados, considerando a concentração de todos os analitos. Ao comparar os resultados das análises das amostras, os autores observaram que nos solos investigados as concentrações de Cd e Cr encontradas representavam indício de contaminação. No ano seguinte, Zeiner *et al.*<sup>179</sup>, avaliando quatro diferentes etapas de extração, determinaram a concentração de 15 elementos (incluindo Cd, Cr, Fe e Al) em amostras de solo, coletados na Croácia, *via* ICP OES. Em um primeiro estágio, sobre a amostra de solo seca, foi empregado ácido acético como agente extrator e realizada a separação do sobrenadante. O precipitado obtido, juntamente com a adição de hidroxilamina, foi utilizado no segundo passo da extração e novamente foi realizada a separação da mistura (sobrenadante e o precipitado). No terceiro estágio, foi empregado acetato de amônia como extrator, com posterior adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O resíduo obtido do estágio três foi, finalmente, submetido à uma decomposição ácida com HCl e HNO<sub>3</sub>; sendo o produto final da decomposição, a quarta etapa de extração. Para verificar a eficiência das extrações e a exatidão dos resultados, dois CRM foram avaliados e os resultados encontrados foram concordantes com os certificados.

Del Mastro *et al.*<sup>180</sup>, em 2015, utilizando as técnicas de ICP OES e ICP-MS, determinaram a presença de 17 elementos, entre eles Cd, Cr, Fe e Al, em solos com diferentes tamanhos de partícula. As amostras foram coletadas na Patagônia (Argentina) e separadas em duas frações: F1 < 37 µm e 37 < F2 < 50 µm. Um procedimento de decomposição ácida foi utilizado, sendo empregados HCl, HNO<sub>3</sub> e HF. A exatidão dos resultados foi comprovada com sucesso avaliando um CRM de solo. Os analitos encontrados em maior concentração foram Al e Fe, enquanto que Cd e Cr apresentaram concentração abaixo de 0,8 e 12 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Considerando alguns estudos que envolvem a determinação de Cd, Cr, Fe e Al em amostras de solo utilizando as técnicas de AAS, Dobrowolski<sup>181</sup> desenvolveu, em 1996, um

método para determinar Ni e Cr em amostras de solo por GF AAS. Como preparo de amostras, o autor utilizou suspensões em meio ácido ( $\text{HNO}_3$ ). As  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  utilizadas foram de 1200 e 2500 °C para Cr e 1000 e 2600 °C para Ni, respectivamente. O autor reporta concentrações de Cr, nos solos investigados, de até 136 mg kg<sup>-1</sup>. Sendo nestes casos recomendado o uso de linhas menos sensíveis e fluxo de gás durante a etapa de atomização. Problemas na estabilidade da suspensão também foram observados e como solução foi avaliada com sucesso a diminuição da granulometria das amostras de solo antes do preparo da suspensão. Em 2008, Peris *et al.*<sup>182</sup> avaliaram 77 amostras de solo, utilizados para agricultura na região do mediterrâneo, *via* FAAS. Para tal, uma mistura de HCl/HNO<sub>3</sub> e da amostra de solo foi submetida a ação de microondas; o resultado desta extração foi utilizado para determinação da concentração de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn. Os resultados mostraram, segundo os autores, que as concentrações de Fe eram provenientes do próprio solo da região, enquanto que o Cd foi considerado um contaminante, provavelmente da atividade humano no local.

A determinação de Cd, Cr e Fe através da HR-CS GF AAS também pode ser encontrada na literatura. Dos Santos *et al.*<sup>183</sup> desenvolveram um método, em 2009, para determinação simultânea de Cd e Fe, em amostras de solo e feijão, utilizando as linhas analíticas de 228,802 e 228,726 nm, respectivamente. Foi empregada a análise direta de amostras sólidas,  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 1700 e 2600 °C, respectivamente e W-Ir como modificadores permanentes. Para comprovar a exatidão dos resultados, os autores utilizaram dois CRM e os resultados encontrados foram concordantes com os certificados, considerando um nível de confiança de 95% através de um teste estatístico (*t-Student*). Em 2010, baseando-se no método proposto por Dos Santos *et al.*<sup>183</sup>, Welz *et al.*<sup>184</sup> investigaram a possibilidade de aumentar a faixa linear de trabalho, aumentando o número de pixels utilizados nas medidas. Como resultado, os autores conseguiram determinar Fe em solos, na linha analítica de 228,726 nm, em uma faixa de concentração 3 vezes maior quando apenas os pixels laterais foram empregados (dados comparados com o uso apenas do pixel central).

É possível, portanto, observar que a maioria dos trabalhos encontrados na literatura, que abordam a determinação de Cd, Cr, Fe e Al em amostras de solo, envolvem pré-tratamentos de amostras. Neste contexto, a análise direta de amostras sólidas pode ser considerada uma excelente alternativa, visto que ela minimiza problemas relacionados a estes pré-tratamentos, proporcionando: menor tempo de análise, menor risco de contaminação das amostras, menor consumo de reagentes e, conseqüentemente, menor geração de resíduos.

Mais, a existência de outros estudos que relatam a determinação sequencial/simultânea, em outras matrizes, de Cd e Fe<sup>71,73,85</sup>, de Cd e Cr<sup>79,81</sup>, de Cr e Fe<sup>72</sup> *via* HR-CS GF AAS, ou mesmo, a determinação de Al<sup>104</sup>, através da molécula diatômica de AlF, *via* HR-CS GF MAS, como já discutido anteriormente (itens 1.4.1 e 1.4.2), demonstram o potencial analítico que a técnica de HR-CS possui.

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento de um método para determinar, de forma sequencial e simultânea, quatro elementos Cd, Cr, Fe e Al, sendo este obtido a partir da molécula de AlH, em amostras de solo *via* HR-CS GF AAS/MAS utilizando análise direta de amostras sólidas. Este estudo foi publicado sob o título “*Sequential and simultaneous determination of four elements in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, Volume 31, 2016, Pages 1269-1277*”. Mais detalhes deste trabalho podem ser encontrados no Item 3, Artigo nº 3.

Em relação á presença de F nos solos, a IUPAC<sup>185</sup> reporta que a principais técnicas para a determinação deste elemento são: o uso de um eletrodo seletivo para íons de F e a cromatografia iônica e gasosa. Taflik *et al.*<sup>186</sup>, em 2012, apresentaram um método para determinar F, por potenciometria utilizando eletrodo seletivo para íons de F, em amostras de suplemento mineral utilizado na nutrição animal. A extração foi realizada em um reator de quartzo, com a adição de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. E exatidão dos resultados foi comprovada pela análise de dois CRM de solo. Em 2003, Saha *et al.*<sup>187</sup> determinaram a concentração de F em amostras de solo através da cromatografia iônica. Segundo os autores, dependendo do método de extração utilizado, não é possível de se determinar F por cromatografia iônica. Eles relataram que quando o solvente utilizado for o acetato, não é possível de separar os sinais do solvente e do íon fluoreto, além de se observar um aumento do ruído instrumental. A exatidão dos resultados foi obtida a partir de testes de recuperação, onde a concentração de F recuperada variou de 95 a 103%. Deste modo, fica clara a dependência da determinação de F com o preparo de amostra empregado.

São escassos os trabalhos que podem ser encontrados na literatura que relatam a determinação de F em solos. Por outro lado, como já foi discutido no item 1.4.2, a HR-CS MAS se torna uma alternativa simples e rápida para a determinação de F, principalmente pela possibilidade de se realizar a análise direta de amostras sólidas. Diversas moléculas diatômicas podem ser empregadas neste sentido, AlF, GaF, SrF e CaF. Além isto, a molécula

de CaF apresenta a vantagem de não necessitar do emprego de modificadores químicos, visto que o Ca participa da formação da molécula e ainda age como modificador<sup>142,143</sup>.

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um método para determinação de F, através da molécula de CaF, em amostras de solo *via* HR-CS GF MAS utilizando a análise direta de amostras sólidas. Este estudo está em publicado sob o título “*New analytical method for total fluorine determination in soil samples via CaF diatomic molecule using high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry*”, *Microchemical Journal*, *Microchemical Journal*, Volume 130, 2016, pages 276-280”. Mais detalhes deste trabalho podem ser encontrados no Item 3, Artigo nº 4.

### **1.5.2 Determinação de Mo e Ni em vinhos e fertilizantes**

Os fertilizantes, que podem ser de origem natural ou manufaturada, contêm os nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas<sup>188,189</sup>. Entretanto, quando utilizados de modo inadequado, podem se tornar um motivo de preocupação devido ao seu potencial de risco para o meio ambiente e à saúde humana. O monitoramento, portanto, da composição dos fertilizantes passa a ter fundamental importância, visando sempre manter a qualidade dos solos. Os macronutrientes, tais como K, Mg, Ca, P e N, são os principais constituintes dos fertilizantes. Estes elementos são vitais para as plantas, pois participam basicamente de todos os processos químicos e biológicos das mesmas. Já os micronutrientes, como Mo, Ni, Cu, Fe, Mn, Zn, que também fazem parte da constituição da maioria dos fertilizantes (em menor concentração), desempenham papéis mais específicos no funcionamento das plantas<sup>190-193</sup>.

Em outras palavras, manter o solo equilibrado, através da aplicação de fertilizantes, é essencial para as plantas. Um bom exemplo disto são as videiras, que são plantas perenes, ou seja, apresentam um ciclo de vida longo, e dependem da reposição periódica de nutrientes no solo. Deste modo, as videiras poderão produzir uvas saudáveis; sendo estas então, empregadas para produzir vinhos de alto valor agregado. Portanto, o vinho, que é um produto derivado da fermentação destas uvas, apresenta sua qualidade influenciada pela complexa interação de fatores como solo, clima, planta e homem; esta relação é conhecida como *terroir*<sup>194</sup>.

Entretanto, de nada adiantariam todos os cuidados com o solo, planta e fruta, se o manejo adequado da matéria-prima durante o processo de produção de vinhos não for levado em consideração. A transformação das uvas em vinho ocorre através de uma sequência básica de etapas: colheita, desengace/maceração, fermentação, adição de conservantes e engarrafamento/envelhecimento. Os conservantes mais utilizados em vinhos são à base de sulfitos<sup>194</sup>. Os sulfitos, por sua vez, podem causar graves problemas à saúde humana quando consumidos em excesso. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) regulamenta este tipo de conservante em bebidas alcoólicas fermentadas, sendo 350 mg L<sup>-1</sup> o seu limite máximo permitido em vinhos<sup>195</sup>.

Sendo assim, o conhecimento sobre a composição mineral dos vinhos e fertilizantes pode ser considerado de suma importância, pois pode fornecer informações sobre a ausência ou presença em excesso de alguns compostos. Neste contexto, dois elementos merecem ser destacados, o Mo e o Ni.

O Mo, considerado essencial para humanos, faz parte da composição química de uma enzima presente no fígado, a sulfito oxidase (SO). Esta enzima realiza a transformação do íon sulfito (presente no vinho, por exemplo), que é considerado tóxico para humanos, para o íon sulfato, que é considerado não-tóxico. Em outras palavras, a ausência da enzima SO pode ser prejudicial, sendo associada com o surgimento de graves problemas de saúde como distúrbios neurológicos e retardamento mental<sup>196</sup>. Por outro lado, a ingestão em excesso de Mo pode ocasionar irritações gastrointestinais, deformações ósseas e nos dentes e até problemas cardíacos. A exposição crônica ao excesso de Mo em seres humanos é caracterizada por altos níveis de ácido úrico na urina, perda de apetite, diarreia, anemia e crescimento lento<sup>197</sup>. Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA), um consumo de até 65 µg dia<sup>-1</sup> de Mo é tolerado para uma pessoa adulta<sup>198</sup>.

Nas plantas, o Mo, está associado com o metabolismo do nitrogênio nas plantas, participando diretamente da etapa de redução do nitrato através da atividade enzimática, principalmente com as enzimas nitrogenases<sup>199</sup>. Os principais sintomas provenientes da deficiência de Mo consistem no amarelamento das folhas mais velhas, diminuição no crescimento e possíveis necroses marginais nas folhas. No caso das leguminosas, a falta de Mo provoca sintomas de deficiência de nitrogênio, pois diminui a fixação do mesmo e, conseqüentemente, a planta fica sem um nutriente essencial para sua sobrevivência<sup>200,201</sup>.

O Ni, por sua vez, também está relacionado com o ciclo do nitrogênio dentro das plantas; ele está diretamente associado à enzima uréase, a qual é responsável pela eliminação



do acúmulo de uréia (que pode atingir concentrações tóxicas) nas folhas<sup>202</sup>. Estudos também reportam que o Ni está associado com a resistência das plantas a doenças<sup>203</sup>, a melhoria na germinação de sementes e com a conservação, pós-colheita, de frutos<sup>204</sup>. Em relação à toxicidade do Ni se pode incluir a clorose, o crescimento reduzido das raízes e da parte aérea e em casos mais severos, deformação de várias partes da planta e manchas peculiares nas folhas<sup>205</sup>. Do mesmo modo, em humanos, o Ni é considerado um elemento não essencial e pode apresentar níveis de toxicidade elevados quando ingerido em grandes quantidades. As consequências do elevado consumo de Ni são irritações no sistema respiratório e na pele, além de problemas cardiovasculares<sup>206</sup>. De acordo com estudos realizados pela EFSA, a ingestão de Ni dentro de uma faixa de 100 a 500  $\mu\text{g dia}^{-1}$  é tolerável para uma pessoa adulta<sup>207</sup>.

A legislação brasileira não regulamenta o limite máximo de Mo e Ni permitido em fertilizantes. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento possui uma instrução normativa (MAPA SDA n° 27 de 05/06/2006) sobre o limite máximo de Ni ( $175 \text{ mg kg}^{-1}$ ) em substratos e condicionadores de solo, mas nenhuma informação ou recomendação sobre o Mo<sup>208</sup>. Em relação ao vinho, a Anvisa<sup>195</sup> regulamenta um valor máximo de Ni permitido,  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , mas não menciona qualquer controle sobre valores de Mo. Tais informações mostram que métodos capazes de determinar a presença de Mo e Ni presentes em fertilizantes, alimentos e/ou bebidas são de fundamental importância.

Na literatura encontram-se inúmeros trabalhos abordando a determinação elementar em amostras de fertilizante e vinho. No entanto, dentre estes estudos, é escasso o número que reportam a determinação de Mo e Ni. Em 1997 Baxter *et al.*<sup>209</sup> determinaram a concentração de 48 elementos em 112 amostras de vinho tinto *via* ICP-MS. Os autores procuravam encontrar um padrão estatístico entre as amostras avaliadas (provenientes da Inglaterra e Espanha) através da correlação entre alguns elementos. Para realizar as análises, as amostras de vinho tinto foram diluídas na proporção 1:1 (50% de amostra e 50% de diluente – ácido nítrico); para comprovar a exatidão dos resultados, estudos de recuperação foram realizados e valores entre 80 e 120% foram encontrados. Por fim, Baxter *et al.* reportam que a concentração média de Mo e Ni nas amostras avaliadas foram de 3 e  $34 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. No entanto, estes elementos não foram decisivos para uma avaliação estatística.

Em 2003, Thiel *et al.*<sup>210</sup> avaliaram 88 amostras de vinho tinto obtidas na Alemanha e determinaram 19 elementos *via* ICP-MS. Os autores reportaram problemas de interferências

espectrais durante a determinação de Mo, provavelmente devido à formação de óxidos. Para contornar este problema os autores diminuíram a vazão do nebulizador para 0,86 - 0,88 L min<sup>-1</sup>. Interferências não espectrais também foram reportadas neste trabalho e para reduzir estes problemas maiores diluições foram utilizadas. A média das concentrações de Mo e Ni encontradas nas 88 amostras de vinho foi de 11 e 25 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Do mesmo modo, em 2005 Šperková *et al.*<sup>211</sup> determinaram 27 elementos utilizando as técnicas de ICP OES e ICP-MS em 53 amostras de vinho tinto da região da Bohemia. Para diminuir as interferências, 70 mL das amostras foram evaporadas até ficarem secas, sendo posteriormente diluídas com 35 mL de HNO<sub>3</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>. O trabalho também verificou a relação (indicação de origem) entre as amostras de vinho com apenas alguns elementos. Os resultados mostraram que as concentrações de Mo e Ni ficaram entre 1 – 14 e 15 – 53 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Mais recentemente, Azcarate *et al.*<sup>212</sup> (2015) determinaram a concentração de 18 elementos em 57 amostras de vinho de diferentes localidades da Argentina. As análises foram realizadas *via* ICP-MS e as amostras foram diluídas com HNO<sub>3</sub>. Para comprovar a exatidão dos resultados, os mesmos foram comparados com aqueles analisados *via* ICP-MS, porém, utilizando uma prévia decomposição assistida por microondas com HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os resultados obtidos para Mo e Ni variaram entre 3-18 e 113-280 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Öz *et al.*<sup>213</sup> apresentaram, em 2014, um dos poucos trabalhos que reportam a determinação de Ni em amostras de vinho (Turcos) *via* GF AAS. Como pré-tratamento, as 43 amostras de vinho foram termicamente decompostas em frascos de teflon, com a adição de HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. As T<sub>pir</sub> e T<sub>atom</sub> para o Ni foram de 700 e 2000°C, respectivamente. Testes de recuperação foram realizados e os valores de 96 e 107% foram obtidos. A concentração de Ni variou entre 100 e 400 µg L<sup>-1</sup>.

No caso dos fertilizantes, o Grupo de Análise de Traços da UFRGS, nos últimos anos, vem trabalhando no desenvolvimento de métodos para determinação de elementos potencialmente tóxicos como Cd<sup>214</sup>, Pb<sup>215</sup>, Cr e Tl<sup>216</sup> em fertilizantes. Em relação à determinação de Mo e Ni, são ainda mais escassos os trabalhos disponíveis na literatura que abordam a presença destes dois elementos neste tipo de amostra. El-Bahi *et al.*<sup>217</sup>, em 2004, desenvolveram um método para avaliar a presença de 24 elementos em amostras de fertilizante *via* ICP OES. As amostras foram submetidas a uma digestão ácida com HNO<sub>3</sub> e HCl em um bloco digestor a 120 °C; os autores relataram dificuldades de preparo de amostra, visto a grande complexidade das amostras, principalmente devido ao excesso de Si. Os

resultados das análises dos fertilizantes mostraram que a concentração variou entre 1,5 e 4,0 mg kg<sup>-1</sup> para Mo e entre 6,5 e 21 mg kg<sup>-1</sup> para Ni.

Molina *et al.*<sup>218</sup>, em 2009, investigaram 22 amostras de fertilizantes a base de fósforo e determinaram a presença de 12 elementos. As amostras foram decompostas sob ação de microondas, utilizando uma mistura de ácidos HNO<sub>3</sub>, HF e HCl, sendo posteriormente analisada por ICP OES. A exatidão dos resultados foi comprovada com a análise de um CRM de solo. Os resultados mostraram que a faixa de concentração para Mo ficou entre 22 e 56 mg kg<sup>-1</sup> e para Ni entre 8 e 89 mg kg<sup>-1</sup>. Webb *et al.*<sup>219</sup>, em 2014, *via* ICP OES analisaram 45 amostras de fertilizante e determinaram simultaneamente 14 elementos. As amostras foram submetidas à decomposição assistida por microondas através da adição de dois ácidos HNO<sub>3</sub> e HCl. Foi utilizado um CRM de fertilizante para avaliar a exatidão dos resultados. Os resultados mostraram que a concentração de Mo e Ni nas amostras variaram em torno de 10 mg kg<sup>-1</sup> e 150 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Os autores ressaltam a importância de conhecer a concentração dos macro e micro nutrientes presentes nos fertilizantes, dada sua influência no meio ambiente.

Até a realização deste trabalho, nenhum estudo havia sido reportado referente à determinação de Mo por GF AAS em amostras de vinho ou fertilizante. Já para o Ni, como já foi discutido anteriormente, apenas um trabalho sobre determinação de Ni em vinhos foi encontrado (Öz *et al.*<sup>213</sup>) e nenhum referente a presença deste metal em fertilizantes *via* GF AAS. No entanto, é possível encontrar estudos sobre a determinação destes dois metais (Mo e Ni) utilizando diferentes técnicas analíticas ou outras matrizes.

Em 1987, Ericson *et al.*<sup>220</sup> determinaram a concentração de Mo em amostras biológicas *via* GF AAS. A preparação das amostras envolveu etapas de extração com hexanol e decomposição ácida com HNO<sub>3</sub> concentrado. Para as análises foram utilizadas T<sub>pir</sub> e T<sub>atom</sub> de 1300 e 2700 °C, respectivamente. Para comprovar a exatidão dos resultados, os autores realizaram estudos de recuperação que variaram entre 96,1 e 101,1%. O método se mostrou eficaz para determinar Mo em níveis de µg L<sup>-1</sup>.

Ainda em 1995, Huang<sup>221</sup> *et al.* determinaram Mo, Cr e Mn em amostras de água do mar utilizando a técnica de GF AAS. Utilizando T<sub>pir</sub> e T<sub>atom</sub> de 1800 e 2650 °C, respectivamente, os autores compararam a necessidade do uso de modificadores químicos, Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e ácido ascórbico, para determinação de Mo nas amostras. Os resultados mostraram que o uso de modificadores possibilitou a obtenção de menores LOD e LOQ. Um método para determinação de Ni, Cr e Co em farinha de trigo foi desenvolvido por González

*et al.*<sup>222</sup>, em 1999, por ET AAS. As análises foram realizadas com as amostras em suspensão ácida ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), utilizando  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 1400 e 2600 °C, respectivamente. Os autores relataram problema de estabilidade da suspensão para determinação de Ni, sendo contornado com a adição de mais  $\text{HNO}_3$ . As concentrações de Ni encontradas nas amostras de farinha variaram entre 150 e 450  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Mais recentemente, em 2013, Rello *et al.*<sup>78</sup>, como já discutido anteriormente, determinaram Ti e Mo em amostras de urina depositada em papel filtro. Os autores utilizaram a análise direta de sólidos através da técnica de HR-CS GF AAS. Os resultados mostraram que a concentração de Mo variou entre 50 e 104  $\mu\text{g L}^{-1}$  dentre as amostra avaliadas. Já a determinação de Pb, Cd, Cr, Ni e Cu foi reportada, em 2015, por Zhong *et al.*<sup>223</sup> em chás provenientes da China. As análises foram realizadas utilizando por HR-CS GF AAS. As amostras de chá foram submetidas a uma decomposição assistida por microondas utilizando  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Para realizar a determinação de Ni nas amostras foi utilizando  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  como modificador químico e  $T_{\text{pir}}$  e  $T_{\text{atom}}$  de 1200 e 2300 °C, respectivamente. Considerando ingestões moderadas de chá, os autores reportam que as concentrações de Ni nestas amostras não oferecem riscos a saúde e ressaltam que uma possível fonte deste elemento para as plantas são os fertilizantes.

Como a maioria destes estudos mostra que a determinação de Mo e Ni pode ser laboriosa, o uso da HR-CS GF AAS é uma excelente alternativa, pois possibilita a análise direta de líquidos/sólidos. Esta técnica permite, ainda, a determinação simultânea de elementos tornando a obtenção de resultados muito mais simples e rápida. Sendo assim, foi proposto um novo método analítico para determinar simultaneamente Mo e Ni em amostras de vinho e fertilizante. Trabalho este, publicado como: “*Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS. Analytical Methods, Volume 6, 2014, pages 4247-4256*”. Mais detalhes deste trabalho podem ser encontrados no Item 3, Artigo nº 1.

### **1.5.3 Determinação de Si em plantas e biomassa**

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. A Organização Mundial da Saúde define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos”<sup>224</sup>. O consumo

de plantas medicinais na forma de chás tem base na tradição familiar e se tornou prática generalizada na medicina popular. Atualmente, muitos fatores têm contribuído para o aumento da utilização deste recurso, entre eles, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica, bem como a tendência, nos dias atuais, ao uso de produtos de origem natural<sup>225</sup>. Em geral, as folhas são a parte das plantas medicinais que tem o maior consumo.

As folhas são consideradas a melhor maneira que uma planta tem de “expressar” o seu estado nutricional, uma vez que há uma relação bem definida entre o crescimento e a produtividade da cultura com os teores de nutrientes nos tecidos<sup>226</sup>. Assim, a análise foliar é uma ferramenta muito importante para monitorar o balanço nutricional da planta, possibilitando relacionar a deficiência ou excesso de determinados nutrientes presentes nela<sup>227</sup>.

Os nutrientes essenciais mais frequentemente monitorados em diagnósticos nutricionais são os macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, e os micronutrientes B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn<sup>228,229</sup>. Muitos estudos são realizados também no âmbito de identificar elementos potencialmente tóxicos como Cd, Cr, Pb, Tl, As e Hg<sup>226-229</sup>. Neste contexto, a classificação de alguns analitos como essenciais ou não essenciais ainda não está totalmente estabelecida. O silício, por exemplo, é o segundo elemento mais abundante no planeta e que vem ganhando cada vez mais destaque devido aos seus benefícios para nossa saúde, principalmente através do consumo de plantas utilizadas para produção de bebidas<sup>230</sup>.

Diversos estudos já demonstraram o envolvimento do silício em aspectos estruturais, fisiológicos e bioquímicos da vida das plantas. O Si tem um papel importante nas relações planta-ambiente, pois pode dar à cultura, melhores condições para suportar adversidades climáticas e biológicas, tendo como resultado final um aumento e maior qualidade na produção<sup>231</sup>. Estresses causados por temperaturas extremas, a presença de metais pesados, por exemplo, podem ter seus efeitos reduzidos com a absorção de silício. Um dos efeitos benéficos que se sobressaem é o seu papel em reduzir a susceptibilidade das plantas a doenças causadas por fungos<sup>232</sup>.

O Si é um dos elementos traço mais abundante do corpo humano. Contribui diretamente na biossíntese de colágeno e na formação e calcificação dos tecidos ósseos<sup>233</sup>. Domingo *et al.*<sup>234</sup> relacionaram ao Si a função de reduzir a absorção e retenção de Al em mamíferos através da formação de aluminossilicatos. Essa informação é de suma importância visto que o acúmulo de Al no organismo está diretamente ligado ao mal de Alzheimer<sup>235</sup>.

Entretanto, o Si ainda não ganhou oficialmente uma posição de destaque como elemento essencial por parte do meio científico, mesmo sendo relacionado com a prevenção de algumas doenças como osteoporose e Alzheimer.

Por outro lado, algumas espécies de plantas, como a palha de cana de açúcar e o caroço de pêssigo, que podem ser utilizadas como biomassa, vem ganhando destaque. Estes materiais têm como diferencial sua origem, sendo considerados resíduos industriais. A biomassa pode ser definida como a quantidade total de matéria orgânica não fossilizada e biodegradável (originada a partir de micro-organismos, plantas e animais) suscetível de ser transformada em energia<sup>236</sup>. Podemos encontrar na literatura inúmeros métodos de conversão de diferentes tipos de biomassa em combustível<sup>237-240</sup>. No entanto, cuidados referentes a contaminações destes produtos precisam ser levados em consideração. Autores como Álvarez-Flórez *et al.*<sup>241</sup> e Sevimoglu *et al.*<sup>242</sup> reportaram que a presença de Si, em altas concentrações, pode danificar a estrutura de motores de combustão interna. Segundo eles, o Si pode gerar depósitos de siloxanos dentro do motor, mesmo nas altas temperaturas atingidas durante a combustão. Estes depósitos podem causar danos severos na estrutura do conjunto pistão/cilindro, devido aos fenômenos de abrasão e oxidação, diminuindo a eficiência e vida útil do motor.

Neste contexto, a análise de plantas medicinais e de biomassa, no intuito de verificar a concentração de Si nelas presente, torna-se de fundamental importância. Na literatura são reportados diversos métodos para determinação de silício em amostras inorgânicas, orgânicas e biológicas. Um dos trabalhos pioneiros neste sentido foi reportado em 1980 por Frech *et al.*<sup>243</sup>, no qual os autores investigaram possíveis interferências durante a determinação de Si por GF AAS. Os autores avaliaram padrões aquosos de Si e observaram que o sinal analítico encontrado variava de acordo com a condição de preparo de amostra utilizada. Frech *et al.*<sup>243</sup> concluíram que essas interferências poderiam estar ocorrendo por interações entre Si outros elementos, principalmente com carbono e oxigênio, dependendo da temperatura utilizada.

Do mesmo modo, em 1989, Nater *et al.*<sup>244</sup> investigaram possíveis alternativas para minimizar perdas no sinal analítico de Si durante as análises de padrões aquosos *via* GF AAS. Foi dada atenção especial no processo de limpeza de material visto a susceptibilidade de contaminação por Si durante o mesmo. Os autores avaliaram a formação de hexafluorsilicatos ( $M_2SiF_6$ ) através do uso de fluoretos alcalinos, assim como o uso de modificadores permanentes (Zr, La e W). Como  $T_{pir}$  e  $T_{atom}$  foram utilizados os valores de 1120 e 2500 °C, respectivamente. Como resultado foi reportado que o uso de Zr como modificador

permanente aumentava significativamente o tempo de vida útil do forno de grafite. Já o uso de LiF, como modificador químico, melhorava a reprodutibilidade dos resultados. No entanto, os autores relataram que mais investigações precisariam ser realizadas, visto o grande número de interferências que podem existir nas determinações de Si.

Em 1998, Shoukry *et al.*<sup>245</sup> avaliaram o efeito do uso de diferentes metais de transição como modificadores químicos durante a determinação de Si *via* GF AAS. Os autores reportam que a sensibilidade dos resultados aumentou significativamente utilizando Co como modificador químico e Zr como modificador permanente. Provavelmente, devido à contribuição do Co no intuito de minimizar possíveis interferências sobre o sinal analítico de Si. Foram utilizadas  $T_{pir}$  e  $T_{atom}$  de 1150 e 2350 °C, respectivamente. Para comprovar a exatidão dos resultados, o CRM BCR32 foi utilizado; os autores relatam que a concentração de Si encontrada está de acordo com àquela reportada pelo CRM. No entanto, foram observados problemas no processo de decomposição do CRM, provavelmente devido à formação de tetrafluoreto de silício, um composto volátil, pelo uso de HF.

Um dos primeiros trabalhos que abordam a determinação de Si em amostras orgânicas é reportado por Resano *et al.*<sup>246</sup> em 2004. Os autores avaliaram amostras de poliamida utilizando análise direta de sólido *via* GF AAS. Como modificadores químicos foram investigados o uso de Pd e Pt. Os resultados com o uso de ambos modificadores se mostraram satisfatórios, no entanto, menores quantidades de Pt foram necessárias. Os resultados obtidos por GF AAS foram comparados com aqueles obtidos por ICP OES, sendo considerados estatisticamente idênticos. Resano *et al.* ressaltam a dificuldade em encontrar na literatura métodos confiáveis para determinação de Si, especialmente por problemas durante o preparo de amostra. Neste contexto, os autores relataram que problemas de contaminação, assim como perdas por formação de compostos voláteis, durante o preparo de amostra podem ser minimizados pela análise direta de sólidos.

Mais recentemente, em 2013, Souza *et al.*<sup>247</sup> desenvolveram um método para determinar Si em plantas utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS). As análises foram realizadas utilizando *pellets* formados por folhas de plantas. As amostras foram avaliadas por LIBS e ICP OES e os resultados obtidos comparados; neste caso, os dados se mostraram similares a um nível de confiança de 95%. Os autores reportaram as vantagens do uso da análise direta de sólidos. No entanto, a sensibilidade do método desenvolvido foi adequada apenas para amostras com concentração de Si acima de 20 mg kg<sup>-1</sup>.

É de conhecimento, portanto, que a determinação de Si pode ser laboriosa e ainda assim não, apresentar resultados confiáveis. Resano *et al.*<sup>246</sup> relataram que durante um teste interlaboratorial, realizado no intuito de investigar um método confiável para determinar Si, foi encontrado um desvio padrão relativo (RSD) de 107% dentre os resultados apresentados pelos diferentes laboratórios, utilizando várias técnicas espectrométricas. Segundo os autores, esta grande variação se deve principalmente a contaminações e/ou perdas que ocorrem durante os processos de preparo de amostra e durante as medidas.

Neste contexto, o uso da técnica de HR-CS GF AAS juntamente com a análise direta de sólidos permitiu o desenvolvimento de um método para analisar amostras de plantas medicinais e biomassa com altas concentrações de Si e deu origem ao artigo intitulado “*Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. Microchemical Journal, Volume 124, 2016, pages 380 – 385*”. Mais detalhes deste trabalho podem ser encontrados no Item 3, Artigo nº 2.



## 2. METODOLOGIA

Em todos os trabalhos, foi utilizado um espectrômetro de alta resolução com fonte contínua Modelo contrAA 700 (Analytik Jena, Jena, Alemanha). Este equipamento permite o uso tanto da chama como do forno de grafite, sendo este último utilizado em todos os experimentos realizados. Apenas para as análises das amostras de vinho foram utilizados fornos de grafite específicos para líquidos (Analytik Jena, Part no. 407- A81.011), juntamente, com o uso de um amostrador automático MPE 60 (Analytik Jena, Jena, Alemanha). Para as demais amostras (fertilizantes, plantas e solos), foram empregados fornos (Analytik Jena, Part no. 407-A81.303) e plataformas de grafite (Analytik Jena, Part no. 407-152.023) específicos para sólidos. Foi utilizada, também, de uma pinça pré-ajustada, a qual faz parte de um acessório de amostragem sólida manual, modelo SSA 6 (Analytik Jena, Jena, Alemanha), para auxiliar na inserção das plataformas no atomizador.

Foi utilizada água ultrapura, obtida a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA), em todos os experimentos, assim como padrões e reagentes de grau analítico. Todos os frascos e vidrarias foram mantidos em banho de ácido nítrico 1,4 mol L<sup>-1</sup> por 24 horas e enxaguados três vezes com água ultrapura antes de serem utilizados. Frascos de plástico foram empregados no desenvolvimento do método para determinação de Si, sendo estes submetidos a um procedimento especial de limpeza, evitando o contato dos mesmos com outros materiais de vidro.

A quantificação de todos os analitos investigados (Mo, Ni, Si, Cd, Cr, Fe, Al e F) foi realizada utilizando curvas de calibração construídas a partir de padrões aquosos. Os parâmetros de mérito (em valores absolutos), LOD, LOQ e  $m_0$ , foram obtidos, respectivamente, através das Equações 1 e 2 e através de uma regra de três (relacionando um dos padrões da curva de calibração com a absorvância integrada de 0,0044 s)<sup>1</sup>.

$$\text{Equação 1: } LOD = \frac{3\sigma}{S}$$

$$\text{Equação 2: } LOQ = \frac{10\sigma}{S}$$

Considerando  $\sigma$  o desvio padrão de dez medidas do branco e  $S$  o coeficiente angular da curva de calibração. Para obtenção dos LOD e LOQ em valores relativos, foi utilizado o princípio de massa ou volume máximo empregado<sup>1</sup>.

As amostras de solo foram coletadas em duas regiões: área rural de Pinto Bandeira (Rio Grande do Sul, Brasil) e área urbana de Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil). As amostras de vinho tinto foram obtidas diretamente com vinícolas de diferentes regiões do Brasil: Oeste do Paraná, Vale do São Francisco, Serra Catarinense, Serra Gaúcha e Campanha Gaúcha. Estabelecimentos comerciais da região de Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil) foram utilizados para aquisição das amostras de fertilizantes e plantas. CRM foram empregados para avaliar a exatidão dos resultados dos métodos desenvolvidos; no caso das amostras de vinho, devido à inexistência de um CRM, testes de recuperação ou decomposições ácidas foram usados neste intuito.

### **3. ARTIGOS APRESENTADOS**

#### **3.1 ARTIGO N° 1**

Título: Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS. Publicado na revista *Analytical Methods*, volume 6, páginas 4247-4256, em 2014.

Pontos importantes:

Foi desenvolvido um método para determinar simultaneamente de Mo e Ni em amostras de fertilizantes e vinho *via* HR-CS GF AAS. Foi empregada a análise direta das amostras sólidas, no caso dos fertilizantes, e líquidas, no caso dos vinhos. O emprego de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  como modificador químico em solução possibilitou a eliminação de uma interferência espectral observada nas análises das amostras de fertilizantes e vinhos. Para avaliação da exatidão dos resultados foram analisados CRM, no caso dos fertilizantes, e testes de recuperação, no caso dos vinhos. Considerando os CRM investigados e as amostras de fertilizante, uma interferência espectral do Fe (313,411 nm) sobre o sinal analítico do Ni (313,410 nm) foi observada. Para corrigir esta interferência, os CRM e as amostras de fertilizantes foram avaliadas na linha alternativa do Fe (312,565/312,568 nm) com sensibilidade semelhante à utilizada. Deste o modo, o sinal do Fe pôde ser subtraído no comprimento de onda de 313,411 nm, obtendo-se, assim, apenas o sinal analítico do Ni.

# Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS

Cite this: *Anal. Methods*, 2014, 6, 4247

William Boschetti,<sup>a</sup> Aline R. Borges,<sup>a</sup> Alvaro T. Duarte,<sup>a</sup> Morgana B. Dessuy,<sup>a</sup> Maria Goreti R. Vale,<sup>\*ab</sup> Jailson B. de Andrade<sup>b</sup> and Bernhard Welz<sup>bc</sup>

The use of high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS), equipped with a linear charge-coupled device (CCD) array detector, makes simultaneous determination of more than one element possible. In this work, HR-CS GF AAS was used for the simultaneous determination of Mo (313.259 nm) and Ni (313.410 nm), for which two analytical methods were developed: direct solid sample analysis for soil amendments and direct sample injection for wine samples. For both these methods, a pyrolysis temperature of 1200 °C and an atomization temperature of 2650 °C were used. Aqueous standard solutions were used for calibration. The linear correlation coefficient was higher than 0.997 for the two analytes. Detection limits of 0.05 and 0.8 µg L<sup>-1</sup> for wine samples and 0.04 and 0.60 mg kg<sup>-1</sup> for soil amendments were found for Mo and Ni, respectively. To investigate the accuracy of the developed method, digested and undigested wine samples were evaluated with spike recovery values between 94% and 106%. For solid samples, three CRM were evaluated, and the values found for Mo were not significantly different from the certified ones; however, those for Ni were always too high. It was found that this was due to a direct line overlap of the Ni line with the Fe line. This effect was overcome by determining Fe using the unresolved analytical line doublet at 312.565/312.568 nm and subtracting this value from the total concentration (Ni + Fe) determined at 313.410 nm. Note that this interference was not observed in wine samples because of their low Fe concentration.

Received 27th January 2014  
Accepted 6th April 2014

DOI: 10.1039/c4ay00241e

www.rsc.org/methods

## 1. Introduction

Wine has been known as an alcoholic beverage since the beginning of civilization, and nowadays it is widely consumed all around the world.<sup>1</sup> Most of this growth in consumption is due to improvements in some technical parameters, such as grape variety, soil control, wine-making practices and storage.<sup>2</sup> Some countries classify their wine products according to geographical origin of the product. In this classification, one of the main interests is using the mineral content to characterize wines, taking into account the relationship between the mineral content in the samples and the soil. This differentiation can be carried out using major and trace elements.<sup>3-7</sup>

Molybdenum (Mo) and nickel (Ni) contribute to the physiological mechanisms in plants. The most important effects of these metals are in the nitrogen metabolism and as enzymatic catalysts.<sup>8-10</sup> In Brazil, wine grapes grow in a wide range of soils; however, a vast majority of these fruits are cultivated in soils which lack in some nutrients. Therefore, corrections are

necessary to ensure that the plants are able to express their complete yield potential.<sup>11</sup> Soil amendments, such as fertilizers and limestone, can be used to supplement the natural availability of minerals, such as Mo and Ni, and thus compensate for their low natural concentration in soils.<sup>12,13</sup> However, these amendments may contain metals that present a risk to human health if they are present in high concentrations.<sup>14,15</sup>

Previous studies report that an intake of high concentrations of Mo results in severe gastrointestinal irritation and death due to cardiac failure; moreover, excess of Mo may also cause bone deformation, dental caries and disturbances in the metabolism of fats and proteins.<sup>16,17</sup> Molybdenum plays an important role in enzymatic redox reactions. It is a component of an enzyme in the human liver, which oxidizes the potentially toxic sulfite ion (present in wine as a preservative compound<sup>2,18</sup>) to a non-toxic sulfate.<sup>19</sup> Nickel is considered a non-essential element for humans, but it has some potentially harmful health hazards to the respiratory tract and the skin. Elevated Ni concentrations can be toxic for animals as well as for humans and plants.<sup>20</sup>

Spectrometric techniques are widely used to determine the mineral composition of wine and soil amendments.<sup>14,15,21</sup> Graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) are used for the determination of trace and ultra-trace element.<sup>22-24</sup> Flame atomic absorption spectrometry (FAAS) and inductively

<sup>a</sup>Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: mgrvale@ufrgs.br; Fax: +55 51 3308 7304; Tel: +55 51 3308 6278

<sup>b</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq – INCT de Energia e Ambiente, UFBA, Salvador, BA, Brazil

<sup>c</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) are applied for the determination of minor and major elements.<sup>25,26</sup> Note that each technique has its advantages and disadvantages. For example, ICP-MS is the most sensitive, multi-elemental technique, but it requires sample digestion, unless electro-thermal vaporization or laser ablation is used, and it is also relatively expensive. In contrast, traditional GF AAS is a one-element-at-a-time technique, but it enables the direct analysis of solid samples without significant additional effort.

With the use of high-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry (HR-CS AAS), equipped with a charge-coupled device (CCD) array detector, several limitations of classical line source AAS could be overcome, particularly those associated with spectral interferences.<sup>27</sup> In addition, this technique makes simultaneous evaluation of several absorption lines possible, and thus permits multi-element determinations to be carried out. However, this potential is rather limited as the instrumentation currently available only allows simultaneous monitoring of a rather small portion of the spectrum (0.2–0.3 nm in the UV region).<sup>28</sup> This means that simultaneous determinations can only be performed when two analytical lines are close enough to fall within the spectral window and the elements have similar thermal behavior.

Another advantage of HR-CS AAS is that the spectral neighborhood of the analytical line becomes visible at high resolution; thus, spectral interferences can usually be detected easily and corrected using a least squares algorithm (least squares background correction, LSBC),<sup>29</sup> if they cannot be avoided by an appropriate temperature program. Previous studies have reported several examples about the use of LSBC to correct for spectral interferences due to diatomic molecules.<sup>29–31</sup>

LSBC may also be used to correct for the direct overlap of atomic lines but only if the interfering element has another atomic line within the spectral window reaching the detector. Welz *et al.*<sup>32</sup> described the well-known interference of Fe (213.859 nm) in Zn (213.856 nm) determination and its correction using another Fe line that is close enough (213.970 nm) to be monitored simultaneously. Therefore, LSBC can be applied successfully to correct for the direct overlap of atomic lines.

Based on the fact that Mo and Ni have nearby analytical lines and similar thermal behavior, the main objective of this work was the development of two analytical methods for the simultaneous determination of Mo and Ni in wine samples and in soil amendments and investigation of potential spectral interferences using high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS). For fertilizer and limestone samples, direct solid-sample analysis was used, while wine samples were analyzed directly without sample preparation using graphite tubes without platform. Digested and spiked wine samples were analyzed for comparison.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

A Model contraA 700 high-resolution continuum-source flame and graphite furnace atomic absorption spectrometer (Analytik

Jena, Jena, Germany) equipped with a xenon short-arc lamp with a nominal power of 300 W, operating in a hot-spot mode, was used throughout the study. This instrument features a double monochromator with a linear CCD array detector with 588 pixels, 200 of which are used for analytical purposes, while the others are used for internal corrections. The primary resonance line at 313.259 nm was used for the determination of Mo, and the secondary line at 313.410 nm was used for the determination of Ni. The spectral resolution at these lines was about 1.85 pm per pixel. The measurements were made using the center pixel (CP) and two side pixels (CP  $\pm$  1) for both Mo and Ni, corresponding to a spectral interval of 5.6 pm; however, the entire spectral range  $\pm$ 0.37 nm around the analytical line of Mo was detected by the 200 pixels that were used for analytical purposes. Peak volume selected absorbance (PVSA),<sup>33</sup> *i.e.*, the integrated absorbance ( $A_{\text{int}}$ ) summed over three pixels around the line core (CP  $\pm$  1), was used for signal evaluation and quantification for both elements.

The transversely heated graphite tube atomizer, which is part of the contraA 700, was used for all measurements with pyrolytically coated solid sampling (SS) graphite tubes (Analytik Jena Part no. 407-A81.303), SS graphite platforms (Analytik Jena Part no. 407-152.023) or pyrolytically coated standard tubes without platform, but with a dosing hole (Analytik Jena Part no. 407-A81.011), which was used for the analysis of liquid samples. For the analysis of soil amendment samples, an M2P micro-balance (Sartorius, Göttingen, Germany) was used for weighing the samples directly on the SS platforms. The mass was automatically transmitted to the computer of the instrument to calculate the integrated absorbance, which was normalized to a sample mass of 0.10 mg after each measurement. This procedure is necessary as it is impossible to always introduce exactly the same sample mass in direct SS analysis. A pre-adjusted pair of tweezers, which is part of the SSA 6 manual solid sampling accessory (Analytik Jena), was used to transfer the SS platforms to the atomizer. An MPE 60 furnace autosampler (Analytik Jena) was used for the introduction of the wine samples into the atomizer.

Argon with a purity of 99.996% (White Martins, São Paulo, Brazil) was used as purge and protective gas. A Model Microwave 3000 (Anton Paar, Graz, Austria) microwave oven, equipped with an eight-vessel rotor and microwave-operated UV lamps, was used for the digestion of wine samples.

### 2.2. Reagents and solutions

Analytical grade reagents were used throughout the study. Distilled and deionized water (DDW) with a specific resistivity of 18 M $\Omega$  cm, from a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA), was used for the preparation of standard solutions. Nitric acid (Merck, Darmstadt, Germany), used to prepare the aqueous calibration solutions, was further purified by sub-boiling distillation in a quartz sub-boiling still (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Germany). All containers and glassware were soaked in 1.4 mol L<sup>-1</sup> nitric acid for at least 24 h and rinsed three times with DDW before use.

The Mo and Ni stock standard solutions (1000 mg L<sup>-1</sup> in 0.014 mol L<sup>-1</sup> nitric acid) were purchased from Specscol (Jacareí,

São Paulo, Brazil). The working calibration solutions were prepared by serial dilutions of the stock solutions with 0.014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>. Moreover, the following chemical modifier solutions were used: NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (100 ± 2 g L<sup>-1</sup> in H<sub>2</sub>O), Pd modifier stock solution (10.0 ± 0.2 g L<sup>-1</sup> in 15% (v/v) HNO<sub>3</sub>), Mg modifier stock solution (10.0 ± 0.2 g L<sup>-1</sup> Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 15% (v/v) HNO<sub>3</sub>), and extra pure NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; all reagents and solutions were purchased from Merck.

### 2.3. Samples and sample preparation

**2.3.1. Soil amendment samples.** In this work, N : P : K fertilizer samples at weight percentage ratios of 4 : 14 : 8 and 10 : 10 : 10 of, a limestone sample with 23.1% K<sub>2</sub>O, 11.3% Mg, 22.5% S and a certified reference material (CRM) NIST SRM 695 (Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer (National Institute of Standards and Technology, USA)) were used. The fertilizer and limestone samples were acquired from local agricultural stores. Two more CRMs were used to check the developed method: MESS-2 Marine Sediment (National Research Council, Canada) and SA-A Sandy Soil (High Purity Standards, Charleston, SC, USA).

Sample pre-treatment included the milling of the samples in three cycles of 20 min each in a vibrating ball mill (Fritsch, Idar-Oberstein, Germany) with stainless steel mortar and balls. After that, the samples were passed through a 45 μm sieve and placed in an oven at 50 °C until they had reached constant weight. Then, the dried samples were placed in a desiccator until they were analyzed. The sample mass introduced into the graphite furnace was between 0.08 mg and 0.15 mg.

A 0.05% (v/v) Triton X-100 (Sigma, St. Louis, MO, USA) was added to the modifier solutions in order to ensure a homogeneous distribution of the chemical modifier over the solid samples. The modifier solution was added manually with a micropipette before inserting the platform into the graphite tube, followed by the heating program presented in Table 1.

**2.3.2. Wine samples.** Wine samples were obtained from five different regions of Brazil: Oeste do Paraná (OPR), Vale do São Francisco (VSF), Serra Catarinense (SCa), Serra Gaúcha (SGa) and Campanha Gaúcha (CGa). All wine samples were from the same grape variety, *Cabernet sauvignon*.

The wine samples were introduced into the graphite furnace directly, *i.e.*, without any dilution or pre-treatment. To increase the analyte mass in the graphite tube, multiple injections were performed, which resulted in a final

Table 2 Graphite furnace heating program for the simultaneous determination of molybdenum and nickel in wine samples using HR-CS GF AAS

Stage	Temperature °C	Ramp °C s <sup>-1</sup>	Hold time s	Gas flow rate L min <sup>-1</sup>
Drying 1	90	10	30	2
Drying 2	100	5	20	2
Drying 3	120	5	10	2
Pyrolysis	1200	300	20	2
Atomization	2650	3000	8	0
Cleaning	2650	0	5	2

volume of 90 μL. A volume of 30 μL was injected, followed by the three drying stages (Table 2). Before the pyrolysis stage, the sequence was interrupted and a new sample aliquot injected. This procedure was repeated until the final volume was reached. The multiple injection sequence was controlled by the software of the equipment.

Due to the lack of a certified reference material for wine samples, recovery tests were used to verify the accuracy of the method. The samples, with and without the addition of the analytes, were subjected to microwave- and UV-assisted digestion. A closed vessel system was used in the digestion procedure, with the addition of 5.0 mL of sample, 2.0 mL of 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1.0 mL of 65% HNO<sub>3</sub> and 3.0 mL of DDW. UV lamps were inserted in the quartz vessels and the following heating program was used: step 1—power: 900 W, ramp time: 10 min and ventilation: 127 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>; step 2—power: 900 W, hold time: 20 min and ventilation: 127 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> and step 3—power: 0 W and ventilation: 190 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> (cooling). After digestion and cooling, the resulting solutions were transferred to 15 mL volumetric flasks, and the final volume was obtained by the addition of DDW. Because of the dilution at this stage, the final volume injected into the atomizer was increased to 120 μL in order to have the same volume of sample injected into the furnace as with the direct sampling.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Analysis of wine samples

**3.1.1. Temperature program and chemical modifiers.** The initial experiments were carried out using the conditions recommended by the manufacturer of the instrument, which are pyrolysis temperature ( $T_p$ ) of 1200 °C, atomization temperature ( $T_{at}$ ) of 2600 °C and the use of no modifier. The first results with wine samples indicated that there might be spectral interference in the Mo and Ni lines. As it was not possible to separate that interference in time using an appropriate temperature program, the effect of different chemical modifiers was evaluated. The modifiers Pd–Mg, Pd and Mg individually and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> were investigated and the interference could not be eliminated; however, when the NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> modifier was used, the interference was completely eliminated and a more symmetric peak was obtained, as shown in Fig. 1. Based on this fact, a study of the modifier mass was performed for a wine sample and a Mo and Ni standard solution by varying the

Table 1 Graphite furnace heating program for the simultaneous determination of molybdenum and nickel in soil amendment samples using HR-CS GF AAS

Stage	Temperature °C	Ramp °C s <sup>-1</sup>	Hold time s	Gas flow rate L min <sup>-1</sup>
Drying 1	90	10	20	2
Drying 2	110	15	20	2
Pyrolysis	1200	300	20	2
Atomization	2650	3000	10	0
Cleaning	2650	0	5	2

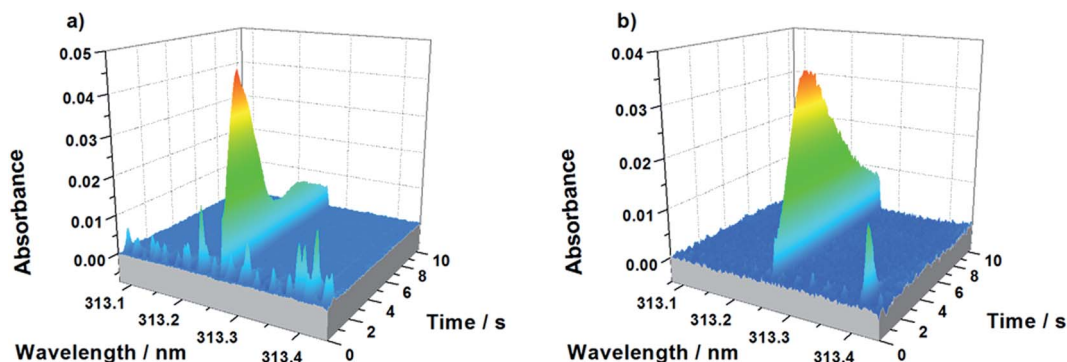


Fig. 1 Time-resolved absorbance spectra for Mo and Ni in 90  $\mu\text{L}$  of a wine sample; (a) without the modifier; (b) with 0.5 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $T_p = 1200^\circ\text{C}$ ; and  $T_{\text{at}} = 2600^\circ\text{C}$ .

modifier mass between 0.5 and 2.0 mg. It was observed that the amount of modifier inserted into the furnace did not cause any significant increase in the integrated absorbance signal ( $A_{\text{int}}$ ), and a modifier mass of 0.5 mg was sufficient to completely eliminate the spectral interference. Therefore, this modifier mass was employed in all further experiments.

The pyrolysis curves obtained for Mo and Ni standard solution and a wine sample are shown in Fig. 2. These curves were obtained using 0.5 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and  $T_{\text{at}}$  of  $2600^\circ\text{C}$  for Mo and Ni.

The pyrolysis curves obtained for molybdenum (Fig. 2a) show a similar behavior for the standard solution and the wine sample. The  $A_{\text{int}}$  remains stable throughout the pyrolysis temperature range that was evaluated. The pyrolysis curves obtained for nickel (Fig. 2b) exhibited a significant decrease in the  $A_{\text{int}}$  for the standard solution above  $1300^\circ\text{C}$ , which was not observed for the wine sample; however, the  $A_{\text{int}}$  for Ni decreased slowly throughout the investigated temperature range. Temperatures lower than  $800^\circ\text{C}$  and higher than  $1600^\circ\text{C}$  were not investigated as spectral interference appeared in the former case, whereas the  $A_{\text{int}}$  for Ni decreased significantly in the latter case. Putting together the information obtained from the pyrolysis curves for Mo and Ni, it is clear that the  $A_{\text{int}}$  for Ni is more affected by temperature increases than Mo, which is according to expectations. For this reason, the  $T_p$  for all future measurements with the  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  modifier was fixed at a temperature of  $1200^\circ\text{C}$ .

Fig. 3 shows the atomization curves for a standard solution with 0.5 ng Mo and 6.0 ng Ni and a wine sample containing Mo and Ni. Molybdenum (Fig. 3a) shows a significant increase in  $A_{\text{int}}$  with temperature both for the aqueous standard and the wine sample, which is again according to expectation. At temperatures higher than  $2650^\circ\text{C}$  the useful lifetime of the graphite tubes decreases significantly, and it is also recommended by the instrument manufacturer that the temperature should not exceed this value. Nickel (Fig. 3b), in contrast, presents a stable  $A_{\text{int}}$  throughout the temperature range investigated, both for the standard solution and the wine sample. Finally, based on the well-defined absorbance signals for both elements,  $T_{\text{at}}$  was fixed at  $2650^\circ\text{C}$  for all further measurements. The final temperature program for the simultaneous determination of Mo and Ni in wine samples is shown in Table 2.

**3.1.2. Figures of merit and recovery tests.** The calibration curves were established using a blank solution and five calibration solutions in the concentration ranges of  $5\text{--}100\ \mu\text{g L}^{-1}$  Mo ( $0.05\text{--}1.0\ \text{ng Mo}$ ) and  $75\text{--}1800\ \mu\text{g L}^{-1}$  Ni ( $0.75\text{--}18\ \text{ng Ni}$ ). The figures of merit for the simultaneous determination of Mo and Ni using HR-CS GF AAS are presented in Table 3. The blank measurements were carried out according to the “zero mass response” with only the modifier solution injected into the graphite tube.<sup>34</sup> The instrumental limits of detection (LOD) were calculated as three times the standard deviation of ten measurements of a blank solution divided by the slope of the

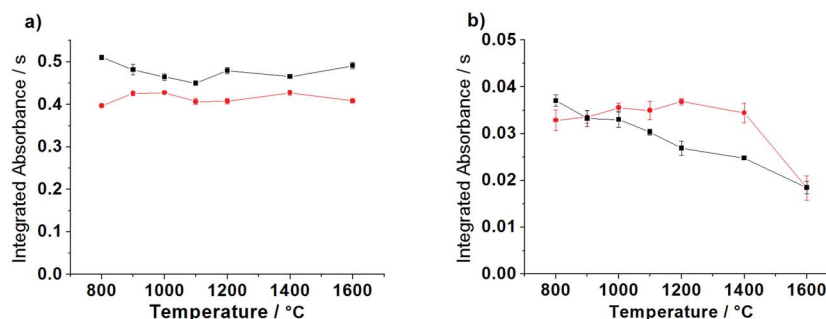


Fig. 2 Pyrolysis curves for (a)  $\bullet$  0.5 ng Mo in an aqueous solution and  $\blacksquare$  a wine sample; (b)  $\bullet$  6.0 ng Ni in an aqueous solution and  $\blacksquare$  a wine sample using a mass of 0.5 mg of  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $T_{\text{at}} = 2600^\circ\text{C}$ .

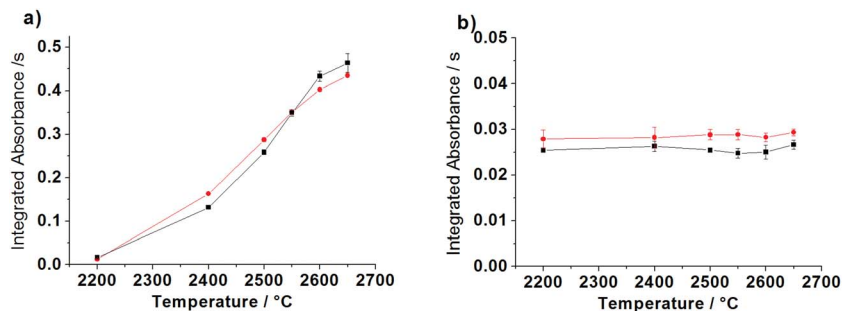


Fig. 3 Atomization curves for (a) ● a standard solution with 0.5 ng Mo and ■ Mo in a wine sample; (b) ● a standard solution with 6.0 ng Ni and ■ Ni in a wine sample using a mass of 0.5 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $T_p = 1200^\circ\text{C}$ .

Table 3 Figures of merit for the simultaneous determination of Mo and Ni in wine using HR-CS GF AAS,  $T_p = 1200^\circ\text{C}$ ,  $T_{at} = 2650^\circ\text{C}$

Parameters	Mo	Ni
$m_0$ (pg)	8.3	189
LOD <sup>a</sup> (pg)/( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4.2/0.05	73/0.81
LOQ <sup>a</sup> (pg)/( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	14/0.16	240/2.7
Linear regression equation	$A_{int} = 0.0034 + 0.515m$ (ng)	$A_{int} = 0.0024 + 0.022m$ (ng)
R	0.9995	0.9984

<sup>a</sup> Total injected volume: 90  $\mu\text{L}$ .

calibration curve. The limits of quantification (LOQ) are based on the same measurements using ten times the standard deviation of the blank readings. LOD and LOQ were calculated considering an injection volume of 90  $\mu\text{L}$ . The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s.

The values of LOD and  $m_0$  for Mo were compared with those reported in the literature. Calvo *et al.*<sup>35</sup> determined Mo in human urine by GF AAS and direct sampling by evaluating different modifiers: the LOD and  $m_0$  values were 0.2  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 14.1 pg, respectively. Baralkiewicz *et al.*<sup>36</sup> determined Mo in water samples using multiple injections without any sample pre-treatment and modifier, and the LOD obtained was 0.07  $\mu\text{g L}^{-1}$ . These values are comparable with those obtained in this work. The use of the Ni line at 313.410 nm is not reported in the literature. Although the LOD and  $m_0$  values obtained for Ni using this line are relatively high, they are adequate for the determination of Ni in wine samples.

To check the trueness of the developed method for the determination of Mo and Ni in wine, samples were spiked by adding appropriate aliquots of 1000  $\text{mg L}^{-1}$  stock standard solution to obtain spikes with 7.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  Mo and 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni, respectively. The spiked samples were analyzed directly, without any pre-treatment, and also after microwave-assisted acid digestion. The recoveries of the analytes added to the wine samples have been around 106% for direct analysis and digested samples with a relative standard deviation of less than 5% for direct sampling and less than 10% for digested samples, which might be considered appropriate for the purpose of this work. The values obtained with the two methods were not

significantly different, according to a *t*-test at a 95% confidence level.

**3.1.3. Determination of Mo and Ni in wine samples.** Based on the results of the recovery test and the figures of merit, the developed method was considered adequate for the determination of Mo and Ni in red wine samples. Five different samples were analyzed, and the results are shown in Table 4. According to Brazilian legislation,<sup>37</sup> the maximum allowed concentration of Ni in wine is 0.1  $\text{mg L}^{-1}$ ; however, there is no value specified for Mo. The European Food Safety Authority (EFSA)<sup>38</sup> has proposed that an adequate intake of Mo for adults is 65  $\mu\text{g}$  per day. Therefore, the results obtained for Ni in wine samples are in agreement with the Brazilian regulations, and those for Mo agree with the limits suggested by EFSA.

The mineral content in wine is of importance for its characterization and for its classification according to geographical origin. Thus, the developed method can be applied with precision and accuracy for this purpose. However, the values for some elements might be affected by the use of soil amendments, such as fertilizer and limestone; thus, the analysis of these materials has been included in the present work.

### 3.2. Analysis of soil amendments

**3.2.1. Temperature program and chemical modifiers.** Initially, three different soil amendments, two fertilizers and one limestone sample, were evaluated using the conditions recommended by the manufacturer for the direct analysis of solid samples, *i.e.*, a  $T_p$  of 1200  $^\circ\text{C}$ , a  $T_{at}$  of 2600  $^\circ\text{C}$  and no modifier. The time-resolved absorbance spectrum of the fertilizer N : P : K (4 : 14 : 8), which is shown in Fig. 4a, exhibited a

Table 4 Values of Mo and Ni determined in five different red wine samples by HR-CS GF AAS;  $n = 3$  measurements  $\pm$  standard deviation

Wine samples	Mo ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Ni ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Oeste do Paraná (OPR)	9.26 $\pm$ 0.12	8.8 $\pm$ 0.1
Vale do São Francisco (VSF)	2.10 $\pm$ 0.07	26.1 $\pm$ 0.8
Serra Catarinense (SCa)	2.36 $\pm$ 0.03	13.2 $\pm$ 0.3
Serra Gaúcha (SGa)	0.87 $\pm$ 0.02	12.8 $\pm$ 0.3
Campanha Gaúcha (CGa)	2.35 $\pm$ 0.08	7.7 $\pm$ 0.4

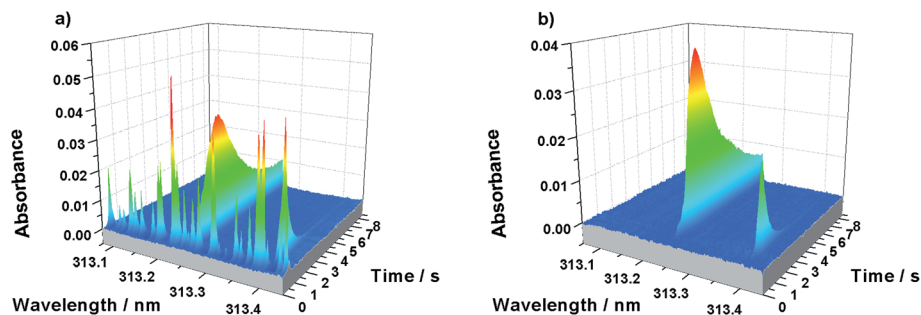


Fig. 4 Time-resolved absorbance spectra for Mo and Ni for an N : P : K = 4 : 14 : 8 fertilizer; (a) without the modifier; (b) with 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X;  $T_p = 1200\text{ }^\circ\text{C}$ ; and  $T_{at} = 2600\text{ }^\circ\text{C}$ .

spectral interference, which had the same pattern as that found in the wine samples. Therefore, the effect of the chemical modifier  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  in the Triton medium was evaluated and, as shown in Fig. 4b, the spectral interference was eliminated.

A study was conducted to optimize the mass of the chemical modifier. The  $A_{\text{int}}$  values for Mo and Ni in the standard solution and in the fertilizer sample were not significantly affected by different masses of  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , except for a slight decrease in sensitivity for masses greater than 0.15 mg. This is significantly lower than the value found for the wine samples, which might be due to the high natural phosphate content of the fertilizer. More important than the influence of the chemical modifier on the sensitivity is its contribution to eliminate the spectral interference. A mass of 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  was chosen, and its influence on the absorbance signal at the three analytical pixels of each element is shown in Fig. 5 and 6. The interference has only a small contribution to the  $A_{\text{int}}$  values for Mo, but the  $A_{\text{int}}$  values for Ni are significantly affected by the interference, particularly at the CP-1 pixel. The action of the modifier in removing the spectral interference provided more symmetric and better defined peaks for both analytes.

The influence of the sample mass introduced into the furnace on the integrated absorbance of Mo and Ni has also been investigated and is shown in Fig. 7. For masses up to 0.2 mg, the  $A_{\text{int}}$  values for Mo increase linearly; however, for higher masses, the value of  $A_{\text{int}}$  starts to deviate from linearity. For Ni, the ratio between sample mass and  $A_{\text{int}}$  remains linear throughout the entire evaluated mass range. This difference is most likely due to the much lower  $A_{\text{int}}$  values obtained for Ni, compared to Mo. Thus, for further experiments, a sample mass around 0.1 mg was used.

As fertilizers have a matrix that is significantly different from that of the wine samples, pyrolysis curves were established for the N : P : K (4 : 14 : 8) fertilizer and Mo and Ni standard solutions. This was considered necessary as a different type of graphite tube and platform, in addition to a different modifier mass was used. Fig. 8a and b show that the standard solutions for Mo and Ni present a small declination in the  $A_{\text{int}}$  values with increasing temperature for both analytes. Fig. 8a also shows high values for the  $A_{\text{int}}$  of Mo at  $T_p$  lower than  $1200\text{ }^\circ\text{C}$  because spectral interference is not completely eliminated, even by using the  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  modifier. Above  $1200\text{ }^\circ\text{C}$ , the interference is eliminated, and the Mo signal is no longer affected. The  $A_{\text{int}}$

values for Ni in aqueous standard solutions were declining more rapidly for  $T_p > 1200\text{ }^\circ\text{C}$ , whereas the  $A_{\text{int}}$  for the fertilizer sample did not decrease up to  $1600\text{ }^\circ\text{C}$ . It is obvious that this

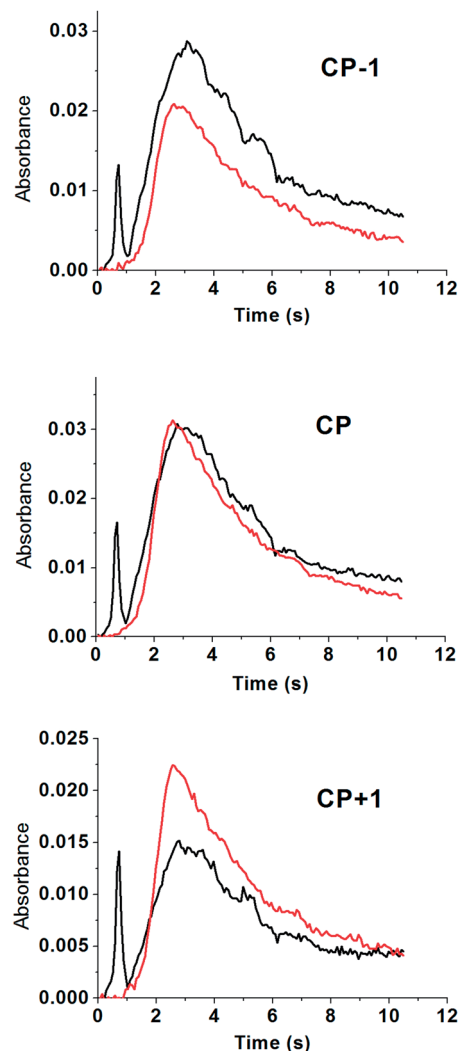


Fig. 5 Absorbance profile of Mo in the N : P : K = 4 : 14 : 8 fertilizer at the three analytical pixels; black line – without modifier, sample mass 0.117 mg,  $A_{\text{int}} = 0.3674\text{ s}$ ; red line – with 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X; sample mass 0.100 mg,  $A_{\text{int}} = 0.3182\text{ s}$ .  $T_p = 1200\text{ }^\circ\text{C}$ ; and  $T_{at} = 2600\text{ }^\circ\text{C}$ .



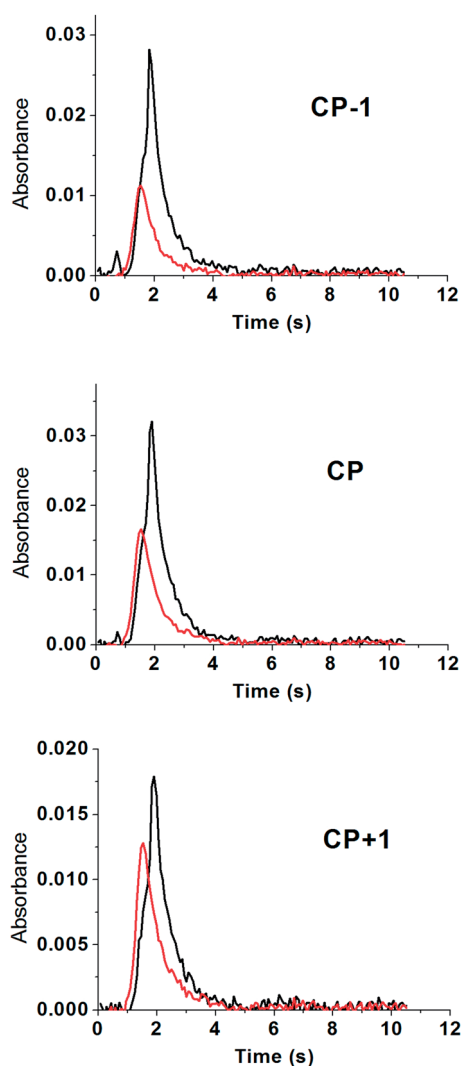


Fig. 6 Absorbance profile of Ni in the N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer at the three analytical pixels: black line – without modifier, sample mass 0.117 mg,  $A_{\text{int}} = 0.0761$  s; red line – with 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X; sample mass 0.100 mg,  $A_{\text{int}} = 0.0429$  s;  $T_{\text{p}} = 1200$  °C; and  $T_{\text{at}} = 2600$  °C.

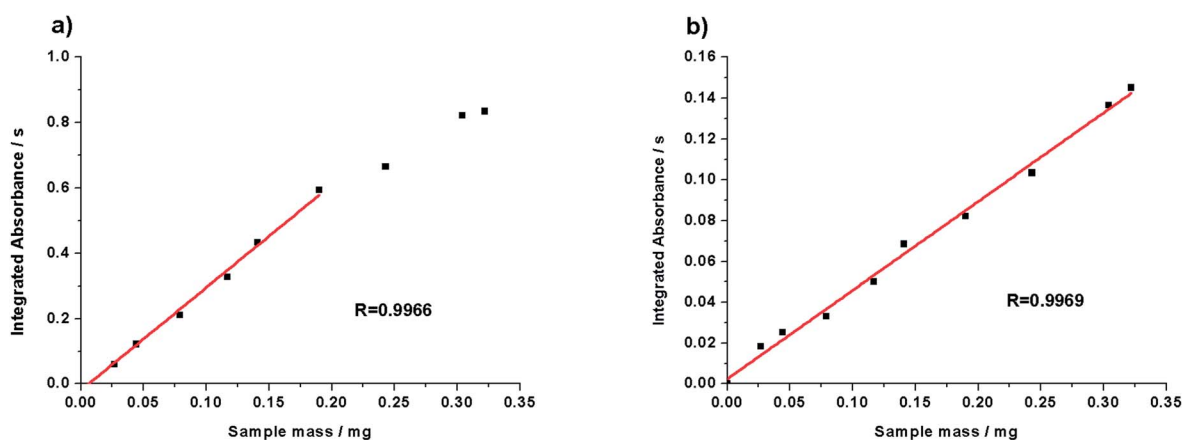


Fig. 7 Dependence of the integrated absorbance signal from different N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer masses introduced into the graphite furnace with 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X. (a) Mo; (b) Ni.  $T_{\text{p}} = 1200$  °C; and  $T_{\text{at}} = 2600$  °C.

additional stabilizing effect is due to a matrix compound that has not yet been removed. It is actually wrong to assume that the complete removal of the matrix in the pyrolysis stage is a precondition for an interference-free determination of the analyte. There are many examples in literature, particularly in direct solid-sample analysis, which show that the matrix can have a stabilizing effect for the analyte; moreover, there are additional examples that show that aqueous standards can be used for the determination of trace elements using direct solid sample analysis in a graphite furnace.<sup>39</sup> For all further measurements 1200 °C was chosen as the best  $T_{\text{p}}$ , as no interference was observed above this temperature.

The atomization curves are shown in Fig. 9. They exhibit a behavior very similar to that for the wine samples for both analytes. Molybdenum reached the maximum  $A_{\text{int}}$  values at a  $T_{\text{at}}$  of 2650 °C, whereas the  $A_{\text{int}}$  values for nickel remain essentially stable over the evaluated temperature range. For further experiments, the  $T_{\text{at}}$  has been fixed at 2650 °C. The final temperature program for determination of Mo and Ni in soil amendments is shown in Table 1.

**3.2.2. Figures of merit.** Calibration curves were established using a blank solution and five calibration solutions in the concentration range of 5–100  $\mu\text{g L}^{-1}$  Mo (0.05–1.0 ng Mo) and of 75–1800  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni (0.75–18 ng Ni). The figures of merit for the simultaneous determination of Mo and Ni using HR-CS GF AAS are presented in Table 5. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) have been calculated for a sample mass of 0.10 mg as three and ten times, respectively, the standard deviation of ten measurements of the blank divided by the slope of the calibration curve. The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of the analyte corresponding to an  $A_{\text{int}}$  of 0.0044 s.

The values found in this work for Mo are comparable or better than published values. Shaltout *et al.*<sup>40</sup> determined Mo in dust samples by HR-CS GF AAS without a modifier using direct solid-sample analysis. They reported LOD and  $m_0$  values of 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$  and 28 pg, respectively. Rello *et al.*<sup>41</sup> determined Mo in dried urine by HR-CS GF AAS using Pt as a modifier and direct

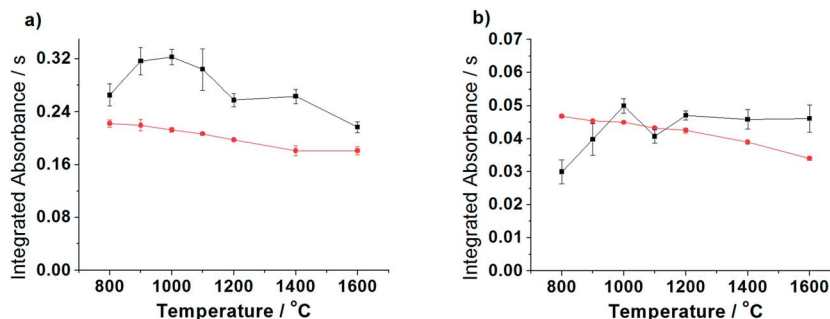


Fig. 8 Pyrolysis curves for (a) ● 0.5 ng Mo in an aqueous solution and ■ N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer; (b) ● 6.0 ng Ni in aqueous solution and ■ N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer; the integrated absorbance values for the solid samples are normalized for a sample mass of 0.1 mg; 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X was used as the modifier; and  $T_{\text{at}} = 2600$  °C.

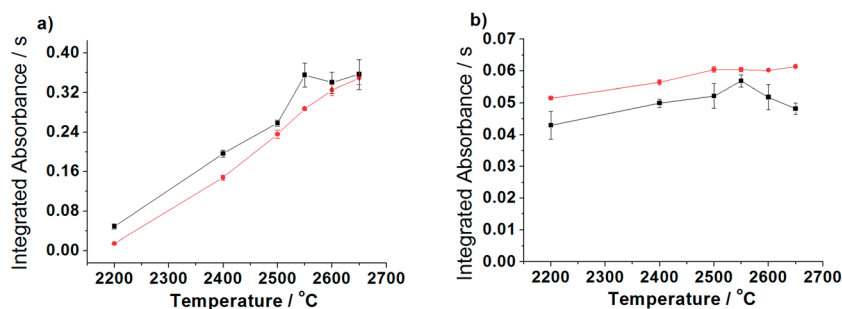


Fig. 9 Atomization curves for (a) ● 0.5 ng Mo in an aqueous solution and ■ N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer; (b) ● 6.0 ng Ni in an aqueous solution and ■ N : P : K – 4 : 14 : 8 fertilizer; the integrated absorbance values for the solid samples are normalized for a sample mass of 0.1 mg; 0.15 mg  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 0.05% Triton-X was used as modifier;  $T_p = 1200$  °C.

solid-sample analysis. They found a LOD of  $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ . No report was found for the determination of Ni at 313.410 nm.

**3.2.3. Sample and CRM analysis.** To check the trueness of the developed method for the determination of Mo and Ni in soil amendment samples, the NIST SRM 695 (Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer) was first analyzed. As shown in Table 6, the result for Mo was in agreement with the certified value with 95% confidence according to a Student's *t*-test. However, the value for Ni was significantly higher than that reported for the CRM. Therefore, two more CRMs, a sediment and a soil, were analyzed, and the results obtained are presented in Table 6. Again, the values determined for Mo were in agreement with

the certified or informed value, but the values for Ni were higher than those of the certified.

The most probable explanation for these particularly high results is the presence of some spectral interference at the analytical line of Ni. We found in the literature<sup>42</sup> that iron has an absorption line at 313.411 nm, which is practically overlapping with the analytical line of Ni used in the proposed method. Hence, the contribution of Fe to the absorbance at the Ni signal was investigated. In all of the analyzed CRM, the Fe concentration was relatively high; in the NIST SRM 695, the certified Fe concentration is  $40 \text{ g kg}^{-1}$ ; in MESS-2 sediment, it is  $69.9 \text{ g kg}^{-1}$ ; and in SA-A soil, it is  $9.27 \text{ g kg}^{-1}$ . A standard solution with  $100 \text{ mg L}^{-1}$  Fe (1000 ng) was evaluated at the 313.410 nm line, and it was possible to observe that there was a contribution of Fe on

Table 5 Figures of merit for the simultaneous determination of Mo and Ni in soil amendment samples using HR-CS GF AAS,  $T_p$ : 1200 °C,  $T_{\text{at}}$ : 2650 °C

Parameters	Mo	Ni
$m_0$ (pg)	7.0	136
LOD <sup>a</sup> (pg)/( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	3.8/38	60/600
LOQ <sup>a</sup> (pg)/( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	11/110	200/2000
Linear regression equation	$A_{\text{int}} = 0.0027 + 0.5639m$ (ng)	$A_{\text{int}} = 0.0013 + 0.03145m$ (ng)
<i>R</i>	0.9969	0.9993

<sup>a</sup> LOD and LOQ calculated for 0.10 mg of sample for both analytes.

Table 6 Results obtained for Mo and Ni in certified reference materials using the developed method

CRM		Mo ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Ni ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
NIST SRM 695	Certified	$20.0 \pm 0.3$	$135 \pm 2$
	Found	$19.7 \pm 1.8$	$190 \pm 20$
MESS-2	Certified	$2.85 \pm 0.12$	$49 \pm 2$
	Found	$2.88 \pm 0.09$	$90 \pm 7$
SA-A	Certified	$1.0 \pm 0.1$	$3.3 \pm 0.3$
	Found	$0.92 \pm 0.03$	$20 \pm 2$

**Table 7** Determination of Mo and Ni in three mineral fertilizers by HR-CS GF AAS using direct solid sample analysis and calibration against aqueous standard solutions;  $n = 3 \pm$  standard deviation

Samples	Mo ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Ni ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
N : P : K - 04 : 14 : 08	$6.9 \pm 0.4$	$14.7 \pm 0.7$
N : P : K - 10 : 10 : 10	$5.6 \pm 0.1$	$7.0 \pm 0.1$
Limestone	$1.00 \pm 0.05$	$6.5 \pm 0.1$

this wavelength. However, no reference about this iron interference on Ni was found in the literature for this wavelength.

In order to correct for this interference, we looked for an additional iron line of similar sensitivity, and the unresolved doublet at 312.565/312.568 nm was found to be the most appropriate. The  $A_{\text{int}}$  values for both iron lines were very similar, with a ratio ( $A_{\text{int}(313.410 \text{ nm})}/A_{\text{int}(312.565/312.568 \text{ nm})}$ ) of 1.13 between their integrated absorbance values. Using the sensitivity ratio as a correction factor and the  $A_{\text{int}}$  at 312.565/312.568 nm, the iron contribution at 313.410 nm could be subtracted. After that correction, the NIST SRM 695 was re-evaluated, and the result of  $134 \pm 8 \text{ mg kg}^{-1}$  was now in agreement with the certified value (Table 6) with 95% confidence, according to a Student  $t$ -test.

It was found that only Fe concentrations above  $50 \text{ mg L}^{-1}$  (500 ng) contributed to a significant increase of the  $A_{\text{int}}$  value of Ni at 313.410 nm. As the wine samples showed no iron concentration that could have any contribution to the  $A_{\text{int}}$  values at 313.410 nm, no correction for this interference was necessary.

As the above results proved that the Fe interference on Ni could be efficiently corrected, the developed method could be applied to determine Mo and Ni in soil amendment samples. All samples were evaluated at both Fe lines, and the corrected results for two fertilizers and one limestone sample are shown in Table 7. Considering that all three soil amendment samples analyzed in this work presented a significant content of Mo and Ni, they may have an influence on the soil composition; *i.e.*, more Mo and Ni can be bioavailable for the plant metabolism. Consequently, for a more precise information about the geographical production origin, the soil of some fertilized regions should be investigated, which could be the topic of a future study.

## 4. Conclusion

A method has been developed for the simultaneous determination of Mo and Ni in two distinctly different types of samples: wine was determined using direct sampling without any sample preparation, and soil amendments were determined using direct solid-sample analysis. The fact that the same temperature program and calibration against aqueous standard solutions could be used for both types of samples once more demonstrates the robustness of HR-CS GF AAS. The spectral interference of Fe at the 313.410 nm Ni line was not described in the current literature, but it could be corrected by measuring the Fe absorption at the 312.565/312.568 nm doublet and subtracting the corresponding contribution of Fe at the 313.410 nm Ni line. In our opinion, this is a good example that neither spike recovery nor sample digestion or any other sample treatment

can discover an interference due to direct line overlap. Although the number of applications for the simultaneous determination of two elements using HR-CS GF AAS is limited due to the relatively narrow spectral window that reaches the detector, the present work offers one more example, and there might be more, which can increase the sample throughput and economize measurement time and consumption of graphite parts.

## Acknowledgements

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) for financial support and scholarships. The authors would like to thank Lucas Ortencio Ferreira for his careful experimental work.

## References

- International Organization of Vine and Wine – OIV – Accessed at December 2013, <http://www.oiv.int/oiv/info/enpublicationsstatistiques>.
- V. Manfroí and E. Giovannini, *Viticultura e Enologia – Elaboração de grandes vinhos nosterrois brasileiros*, IFRS, Bento Gonçalves, 2009.
- P. Paneque, M. T. Álvarez-Sotomayor, A. Clavijo and I. A. Gómez, *Microchem. J.*, 2010, **94**, 175–179.
- Y. Vystavna, L. Rushenko, D. Diadin, O. Klymenko and M. Klymenko, *Food Chem.*, 2014, **146**, 339–344.
- J. M. Jurado, Á. Alcázar, A. P. Morillo and F. Pablos, *Food Chem.*, 2012, **135**, 898–903.
- I. Geana, A. Iordache, R. Ionete, A. Marinescu, A. Ranca and M. Culea, *Food Chem.*, 2013, **138**, 1125–1134.
- R. Lara, S. Cerutti, J. A. Salonia, R. A. Olsina and L. D. Martinez, *Food Chem. Toxicol.*, 2005, **43**, 293–297.
- I. A. Yaneva, V. D. Baydanova and R. V. Vunkova-Radeva, *J. Plant Physiol.*, 2000, **157**, 495–501.
- M. E. Jean, K. Phalyvong, J. Forest-Drolet and J. P. Bellenger, *Soil Biol. Biochem.*, 2013, **67**, 140–146.
- J. L. Boer, S. B. Mulrooney and R. P. Hausinger, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2014, **544**, 142–152.
- A. C. C. Bernardi, A. C. A. Silva, D. V. Pérez and N. A. Meneguelli, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2002, **33**, 2661–2672.
- U. C. Gupta and J. Lipsett, *Adv. Agron.*, 1981, **34**, 73–115.
- S. He, Z. He, X. Yang and V. C. Baligar, *Adv. Agron.*, 2012, **117**, 117–189.
- A. R. Borges, E. M. Becker, C. Lequeux, M. G. R. Vale, S. L. C. Ferreira and B. Welz, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2011, **66**, 529–535.
- A. R. Borges, E. M. Becker, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale and B. Welz, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2014, **92**, 1–8.
- A. K. Das, R. Chakraborty, M. L. Cervera and M. Guardia, *Talanta*, 2007, **71**, 987–1000.
- R. Gürkan, U. Aksoy, H. I. Ulusoy and M. Akçay, *J. Food Compos. Anal.*, 2013, **32**, 74–82.

- 18 B. Molinero-Abad, M. A. Alonso-Lomillo, O. Domínguez-Renedo and M. J. Arcos-Martínez, *Anal. Chim. Acta*, 2014, **812**, 41–44.
- 19 D. Beijan, *Anal. Chim. Acta*, 1999, **390**, 255–259.
- 20 J. Ščančar, T. Zuliani and R. Milačić, *J. Food Compos. Anal.*, 2013, **32**, 83–89.
- 21 G. Grindlay, J. Mora, L. Gras and M. T. C. Loos-Vollebregt, *Anal. Chim. Acta*, 2011, **69**, 18–32.
- 22 M. B. Dessuy, M. G. R. Vale, A. Souza, S. L. C. Ferreira, B. Welz and D. Katskov, *Talanta*, 2008, **74**, 1321.
- 23 M. M. Castiñeira, R. Brandt, A. Von-Bohlen and N. Jakubowski, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 2001, **370**, 553.
- 24 C. M. Almeida and M. T. S. D. Vasconcelos, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **463**, 165.
- 25 W. Boschetti, R. T. Rampazzo, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale, A. O. Rios, P. Hertz, V. Manfroi, P. G. Celso and M. F. Ferrão, *Talanta*, 2013, **111**, 147–155.
- 26 F. R. S. Bentlin, F. H. Pulgati, V. L. Dressler and D. Pozebon, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2011, **22**, 327–336.
- 27 B. Welz and M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley-VCH, Weinheim, 3rd edn, 1999.
- 28 B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek and U. Heitmann, *High-Resolution Continuum Source AAS*, Wiley-VCH, Weinheim, 2005.
- 29 M. Resano, M. R. Flórez and E. García-Ruiz, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2013, **88**, 85–97.
- 30 R. G. O. Araujo, B. Welz, F. Vignola and H. Becker-Ross, *Talanta*, 2009, **80**, 846–852.
- 31 B. Welz, M. G. R. Vale, M. M. Silva, H. Becker-Ross, M. Huang, S. Florek and U. Heitmann, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2002, **57**, 1043–1055.
- 32 B. Welz, S. Morés, E. Carasek, M. G. R. Vale, M. Okruss and H. Becker-Ross, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2010, **45**, 327–354.
- 33 U. Heitmann, B. Welz, D. L. G. Borges and F. G. Lepri, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2007, **62**, 1222–1230.
- 34 U. Kurfürst, *Solid Sample Analysis*, Springer, Berlin, 1998.
- 35 C. P. Calvo, P. B. Barrera and A. B. Barrera, *Anal. Chim. Acta*, 1995, **310**, 189–198.
- 36 D. Baralkiewicz and J. Siepak, *Anal. Chim. Acta*, 1997, **353**, 85–89.
- 37 Decreto no. 55871, de 26 de março de 1965, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) – Accessed in February 2014, <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>.
- 38 European Food Safety Authority (EFSA) – Accessed in February 2014, <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/130808.htm>.
- 39 B. Welz, M. G. R. Vale, D. L. G. Borges and U. Heitmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 2085–2095.
- 40 A. A. Shaltout, B. Welz and I. N. B. Castilho, *Atmos. Environ.*, 2013, **81**, 18–24.
- 41 L. Rello, A. C. Lapeña, M. Aramendía, M. A. Belarra and M. Resano, *Spectrochim. Acta Part, B*, 2013, **81**, 11–19.
- 42 NIST Atomic Spectra Database Lines Form – Accessed in November 2013, [http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines\\_form.html](http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html).

### 3.2 ARTIGO N° 2

Título: Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. Publicado na revista *Microchemical Journal*, volume 124, páginas 380-385, em 2015.

Pontos importantes:

Foi desenvolvido um método analítico para determinação de Si em amostras de plantas *via* HR-CS GF AAS empregando a análise direta de amostras sólidas. Foram investigadas amostras de plantas utilizadas para fins medicinais e de plantas com potencial para uso como biomassa. Devido à alta concentração de Si na amostras, foi utilizada a linha de 5,9% de sensibilidade relativa e, ainda, o uso de fluxo de gás mínimo na etapa de atomização. Vale ressaltar a dificuldade na determinação de Si *via* GF AAS, fato este reportado por diversos autores, principalmente por perdas do analito nos procedimentos de preparo de amostra ou mesmo no processo de atomização. Para contornar estes problemas, foi utilizada a combinação de modificadores químicos: Rh (permanente) e Pd/Mg (em solução). A exatidão dos resultados foi comprovada através da análise de CRM.



# Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry



Wiliam Boschetti<sup>a</sup>, Luíza M.G. Dalagnol<sup>a</sup>, Mariana Dullius<sup>b</sup>, Ariane V. Zmozinski<sup>a</sup>, Emilene M. Becker<sup>a</sup>, Maria Goreti R. Vale<sup>a,c,\*</sup>, Jailson B. de Andrade<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>b</sup> Vinicola Geisse, Linha Jansen s/n, 95700-000 Pinto Bandeira, RS, Brazil

<sup>c</sup> Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq-INCT de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 11 July 2015

Received in revised form 21 September 2015

Accepted 22 September 2015

Available online 3 October 2015

### Keywords:

HR-CS GF AAS

Silicon

Direct solid sample analysis

Plant material

Chemical modifier

## ABSTRACT

In this work, a method for the determination of silicon in plant material by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry has been developed using direct solid sample analysis. The performance of iridium and rhodium as permanent modifiers alone and combined with the palladium–magnesium modifier in solution was investigated. According to the results, among the investigated modifiers, an improvement in sensitivity and Si signal profile was obtained using 300 µg of Rh in combination with 20 µg of Pd + 12 µg of Mg. The optimized pyrolysis and atomization temperatures were 1200 and 2650 °C, respectively. Due to the high content of Si in most of the evaluated samples, the analytical line of 221.174 nm was chosen. Moreover, an adequate working range (30 to 600 ng Si) was achieved after using a minimum gas flow in the atomization stage and the integrated absorbance of the center pixel only. The sample mass varied between 0.03 and 0.50 mg, and no spectral interferences were encountered. The limit of detection was 5 ng mg<sup>-1</sup> and the limit of quantification 17 ng mg<sup>-1</sup>, both were calculated according to the maximum sample mass of 0.50 mg. The Si content investigated in ten plant samples varied between 0.5 and 20 µg mg<sup>-1</sup>. The accuracy of the method was evaluated using the certified reference materials NCS ZC73014 (Trace elements in Tea) and NCS ZC73349 (Bush Branches and Leaves) and results presented no significant difference between the certified and found concentrations. Therefore, the obtained results prove that an accurate method has been developed and it could be applied to analyze different plant materials with levels varying in a wide range, with minimum of pretreatment.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Silicon is one of the most abundant elements in the earth's crust and is widely distributed in nature in different forms [1,2]. For higher animals and humans, Si might be considered an essential nutrient [1,3]. In this sense, many studies about silicon benefits have been reported in the past decades [3–6]. It is already known that silicon is directly related to bone structure and strength (Osteoporosis) [7,8], preventing collagen metabolism abnormalities [9] and reducing the risk of developing Alzheimer's disease [10–12]. The main hypothesis is that Si interacts with aluminum species, which might be potentially toxic in high concentration, forming aluminosilicate molecules and thus preventing the competition between Al and other elements that are essential to higher animals and humans [10].

Regarding the importance of Si for many biological life systems, several analytical techniques for Si determination were reported. Among them, graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) [1, 13,14], inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) [15,16], inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [17], laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) [18] and X-ray fluorescence spectrometry (XRF) [19,20] were employed for biological, inorganic and plant materials analysis. Nevertheless, even though excellent limits of detection were achieved, some of these techniques are costly and require sample pretreatment to provide total matrix decomposition. Moreover, the sample pretreatment is usually time-consuming and involves the addition of HF and other reagents, which may result in Si contamination and might also lead to losses of volatile Si compounds, especially as silicon tetrafluoride [14].

In order to avoid exhaustive sample preparation procedures and a possible Si contamination, direct solid sample analysis associated with GF AAS has been successfully employed. Furthermore, when trace analysis is required, direct solid sample analysis improves the sensitivity since dilution of samples is avoided. Resano et al. [14] reported the direct Si

\* Corresponding author at: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 3308 6278; fax: +55 51 3308 7304.

E-mail address: [mgrvale@ufrgs.br](mailto:mgrvale@ufrgs.br) (M.G.R. Vale).

determination in polyamide polymer samples comparing the performance of Pd and Pt as chemical modifiers using aqueous standard solutions for calibration. Similar performance for both modifiers in terms of sensitivity, limits of detection and reproducibility was found, providing fast and reliable results for Si determination by GF AAS using solid sample (SS) analysis. The limit of detection (LOD) obtained by SS-GF AAS was similar to that obtained by electrothermal vaporization ICP-MS.

Huang and Krivan [21,22] determined Si in titanium and zirconium oxides and titanium pieces by GF AAS. These inorganic materials were evaluated with direct analysis and using Pd/Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> as chemical modifier. The LOD obtained for each sample was between 0.02 and 0.3 μg g<sup>-1</sup>. Huang and Krivan [1] also developed a method for direct determination of trace Si in biological materials using mixed Pd/Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> as the chemical modifier. The LOD was 0.03 μg g<sup>-1</sup>. These are evidences that GF AAS with direct solid sample analysis, combined with chemical modifiers, can be successfully applied for Si determination in organic and inorganic materials.

However, it is known that SiC<sub>2</sub> and SiO molecules might be formed during GF measurements, affecting the accuracy of the results [23–26]. In order to prevent the formation of stable SiC<sub>2</sub>, permanent modifiers such as Nb, Ta, W, Zr [27–33] were used to form thermodynamically stable carbides on the surface of graphite tubes or platforms. Moreover, the formation of volatile Si molecules can be minimized by co-injecting a chemical modifier in solution. In this context, transition metals (Pt, Co and Pd) and alkali metal fluorides [14,27,34–38] have been used due to their potential formation of interstitial silicides (M<sub>x</sub>Si<sub>y</sub>), which are stable under the graphite furnace conditions, decreasing the interaction between Si and O.

The present work shows the development of a method to determine Si by HR-CS SS-GF AAS in different kind of plant materials. The investigated samples include plants consumed by humans as tea and samples that have high potential application as biomass. In order to avoid the formation of stable SiC<sub>2</sub> and volatile Si species, Ir and Rh as permanent modifiers were investigated alone and combined with Pd/Mg modifier in solution.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

All measurements were carried out using a high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer Model contrAA 700 (Analytik Jena, Jena, Germany). It is equipped with a flame and a graphite furnace atomizer in two separate compartments and a high-intensity xenon short-arc lamp operating in a hot-spot mode, with a nominal power of 300 W, which emits a continuum spectrum between 190 and 900 nm. The high-resolution is achieved by combining a double monochromator (prism and echelle grating) with a linear charge-coupled device (CCD) array detector, which has a spectral resolution of about 1.5 pm per pixel at 200 nm. The analytical line at 221.174 nm and the integrated absorbance ( $A_{int}$ ) of the center pixel (CP) only have been used for signal evaluation.

Transversely heated, pyrolytically coated solid sampling (SS) graphite tubes without a dosing hole (Analytik Jena, Part no. 407-A81.303) and SS graphite platforms (Analytik Jena, Part no. 407-152.023) were used in all measurements. An M2P microbalance with a precision of 0.001 mg (Sartorius, Göttingen, Germany) was used for weighing the samples directly onto the SS platforms. A pre-adjusted pair of tweezers, which is part of the SSA 6 manual solid sampling accessory (Analytik Jena), was used to transfer the SS platforms to the atomizer. Argon with a purity of 99.996% (White Martins, São Paulo, Brazil) was used as the purge gas with a flow rate of 2.0 L min<sup>-1</sup> during all stages, except during atomization, when the internal flow rate was kept at 0.1 L min<sup>-1</sup> in order to reduce the sensitivity [39,40]. The optimized graphite furnace temperature program used for all determinations is shown in Table 1.

**Table 1**

Instrumental parameters used for the determination of Si in plant material using HR-CS SS-GF AAS.

Wavelength (nm)	221.174
Ar gas flow during atomization (L min <sup>-1</sup> )	0.1
Background correction	IBC
Temperature program	Temperature (°C)/Ramp (°C s <sup>-1</sup> )/Hold time (s)
Drying 1	90/10/20
Drying 2	120/10/30
Pyrolysis	1200/300/30
Atomization	2650/3000/7
Cleaning	2650/0/5

### 2.2. Reagents

All reagents were of analytical grade or higher purity. Water with a specific resistivity of 18 MΩ cm from a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) was used to prepare all standards and solutions. The calibration standard solution was prepared by serial dilution of 1000 mg L<sup>-1</sup> Si with 1% (v/v) HNO<sub>3</sub> (Titrisol, Merck, Darmstadt, Germany). To avoid Si contamination from glass material only polypropylene bottles were used. All flasks were cleaned by soaking them in a 1.4 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> solution for at least 24 h, and subsequently rinsed with ultrapure water before use.

The optimized concentration for the chemical modifier solution was a mixture of 10 μL of 0.2% Pd (m/v) + 0.12% Mg (m/v) in the presence of 0.05% (v/v) Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). To prepare this chemical modifier in solution adequate dilutions of 10.0 ± 0.2 g L<sup>-1</sup> Pd (Sigma-Aldrich) and 10.0 ± 0.2 g L<sup>-1</sup> Mg (Sigma-Aldrich) were used. 1000 mg L<sup>-1</sup> stock solutions of Rh (Alfa Aesar, Parkridge, USA) and Ir (AccuStandard, New Haven, USA) were used directly as permanent modifiers.

### 2.3. Certified reference materials, samples and sample preparation

The certified reference materials (CRMs) NCS ZC73014 – Trace Elements in Tea and NCS ZC73349 – Bush Branches and Leaves (China National Analysis Center for Iron & Steel, Beijing, China) – were employed to optimize and evaluate the accuracy of the developed method. Ten plant samples were evaluated; three medicinal herbs (tea), *Equisetum giganteum* L., *Cymbopogon citratus* Stapf and *Camelia sinensis*, were purchased at a local market (Porto Alegre, Brazil); three vine petiole *Vitis vinifera* samples (C3L46, C4L56, C6L96) were obtained from a vineyard located in Pinto Bandeira, (Rio Grande do Sul, Brazil); two samples of *Ilex paraguayensis* (Ip1 and Ip2), used to prepare a typical beverage of southern South America, were purchased at a local market (Porto Alegre, Brazil). Samples with high potential to be applied as biomass such as *Saccharum officinarum* L., sugarcane straw, and *Prunus persica*, peach pits (Rio Grande do Sul, Brazil) were also investigated.

In order to reduce the particle size, all samples were ground in a micro-mill A-11Basic (IKA-Werke, Germany). Prior to the grinding step, *S. officinarum* L. and *P. persica* biomass samples were fragmented into pieces of approximately 1 cm, by a stainless-steel knife, and the vine petiole samples were lyophilized using a freeze dryer Model ModulyonD (Thermo Electron Corporation, USA). The fragmentation cycle was divided into three grinding steps of 20 s each; after each of the three grinding cycles it was necessary to introduce a hold time of 10 min for cooling the engine of the mill. After milled, all samples were sieved through a 0.2 μm polyester sieve and kept in sealed plastic vials until further analysis.

### 2.4. Modifiers and direct analysis procedures

SS graphite platforms were coated with two different permanent modifiers, Ir or Rh. Aliquots of 30 μL of 1 g L<sup>-1</sup> Ir or Rh standard solutions

were injected on the platforms, followed by the temperature program shown in Table 2; this procedure was repeated 10 times, resulting in 300 µg of modifier on the platform. The temperature program used for this procedure was adapted from a previous work [41].

The sample mass was weighed directly onto the coated SS platforms, and before it was introduced into the graphite furnace, 20 µg of Pd + 12 µg of Mg in 0.05% (v/v) Triton X-100, as chemical modifier in solution, was injected over the solid sample. The sample mass ranged between 0.03 and 0.50 mg for all samples and CRMs. To compare the measurements performed with different sample masses the  $A_{int}$  was normalized for an appropriate sample mass. Five replicates were carried out for each sample in all further measurements.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Preliminary studies

As reported in the literature, chemical modifiers are strongly recommended for the determination of Si. It is known that Si measurements without modifier exhibit poor repeatability (relative standard deviation – RSD > 30%), mainly because of tailing and double peak formation [14]. Owing to the great variety of investigated plant materials, preliminary studies were carried out in order to find an appropriate analytical line for Si determination. A screening was performed over the investigated samples and CRMs. Two analytical lines are shown in the time-resolved absorbance spectra for Si (Figs. 1 and 2) at 221.174 and 221.089 nm, with a relative sensitivity of 5.9 and 17%, respectively, compared to the most sensitive line at 251.611 nm. Due to the high content of Si in most of the evaluated samples, the analytical line at 221.174 nm was chosen. Moreover, an adequate working range was only achieved after using a minimum gas flow of 0.1 L min<sup>-1</sup> in the atomization stage and the  $A_{int}$  of the center pixel only. For the preliminary studies, the pyrolysis and atomization temperatures used were 1200 and 2650 °C, respectively; the chemical modifier was 20 µg Pd + 12 µg Mg + 0.05% Triton X-100 in solution.

Comparing the  $A_{int}$  values obtained for the two CRMs with those for the aqueous standard solution, using Pd/Mg as chemical modifier in solution, the results for the CRMs were lower than expected. This might be related to SiO and/or SiC<sub>2</sub> formation or to the complex sample matrix.

#### 3.2. Investigation of modifiers

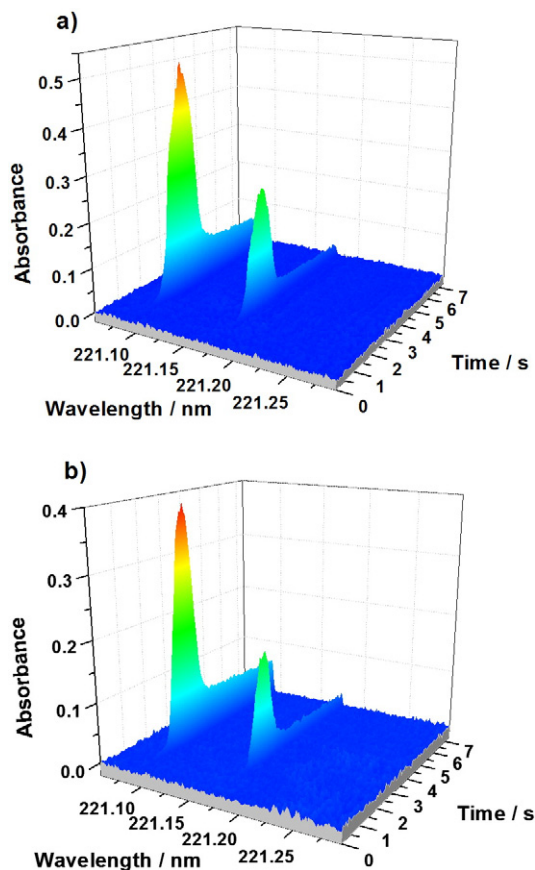
In order to minimize possible Si losses during the heating program, Ir and Rh were evaluated as permanent modifiers alone and in combination with Pd/Mg in solution. Using a SS graphite platform coated with 300 µg of Ir without Pd/Mg, both CRMs showed a double peak and non-reproducible analytical signals. Performing the measurements using Ir and co-injecting Pd/Mg in solution the results exhibited poor repeatability (RSD > 20%) and tailing of the Si signal, as can be seen in Fig. 1. Thus,  $A_{int}$  values higher than expected were found due to these modifiers, and no further experiments were carried out using Ir.

Using only Rh as permanent modifier double non-reproducible peaks were obtained as well, for both CRMs. However, the combination of 300 µg Rh with Pd/Mg in solution completely removed the tail from the Si signal, as can be seen in Fig. 2. Moreover, the  $A_{int}$  values increased in comparison with those obtained in the preliminary studies and the

**Table 2**

Temperature program for SS platform coating using permanent modifiers Ir or Rh; the program cycle was repeated after each of the 10 injections of the modifier solution.

Temperature program	Temperature (°C)/Ramp (°C s <sup>-1</sup> )/Hold time (s)
Step 1	100/10/20
Step 2	150/30/30
Step 3	250/20/35
Step 4	1000/1000/10
Step 5	2000/200/5



**Fig. 1.** Time-resolved absorbance spectrum in the vicinity of the 221.174 nm analytical line for Si using Ir (300 µg) as permanent modifier and Pd (20 µg) and Mg (12 µg) as chemical modifiers in solution. a) CRM Tea (0.267 mg;  $A_{int}$ : 0.4083 s); b) CRM Bush Branches and Leaves (0.032 mg;  $A_{int}$ : 0.2641 s).  $T_{pyr}$ : 1200 °C, and  $T_{atom}$ : 2650 °C.

precision also improved, with RSD values lower than 10%. Since the combination of Rh and Pd/Mg presented the best results (symmetric peaks, high  $A_{int}$  values and good repeatability), the proper amount of the chemical modifier in solution was optimized. The influence of Pd/Mg on the Si signal is shown in Fig. 3. The Si  $A_{int}$  values increased with the chemical modifier mass, reaching a plateau for masses higher than 5 µg Pd + 3 µg Mg for both CRM and an aqueous standard solution. The best precision (RSD ≈ 10%) and the most symmetric peaks were obtained with 20 µg Pd + 12 µg Mg.

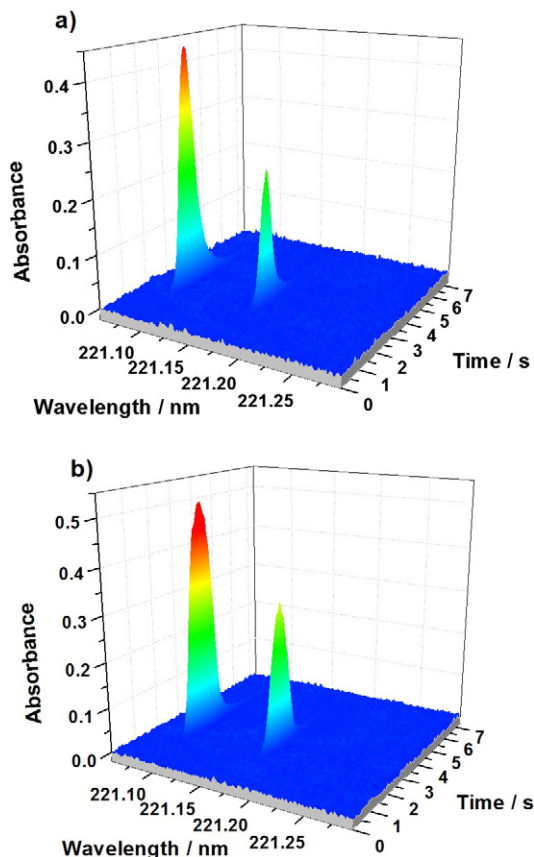
#### 3.3. Graphite furnace temperature program

The CRMs NCS ZC73014 – Tea and NCS ZC73349 – Bush Branches and Leaves and an aqueous standard solution of 100 ng Si were used for the optimization of the temperature program. As shown in Fig. 4, the  $A_{int}$  values were stable up to a pyrolysis temperature ( $T_{pyr}$ ) of 1800 °C. Nevertheless, as there was no interference on the Si signal evaluating the two CRMs, in order to increase the graphite tube lifetime, a temperature of 1200 °C was chosen for the pyrolysis stage. The most symmetric peak shape was obtained only using the highest atomization temperature ( $T_{atom}$ ) investigated. Therefore, the optimized temperatures,  $T_{pyr}$  and  $T_{atom}$ , used in the following measurements were 1200 and 2650 °C, respectively.

#### 3.4. Influence of sample mass

The influence of the sample mass on the  $A_{int}$  values was also investigated and showed a linear correlation from 0.03 to 0.10 mg for Bush Branches and Leaves ( $R = 0.9889$ ) and from 0.03 to 0.50 mg for Tea



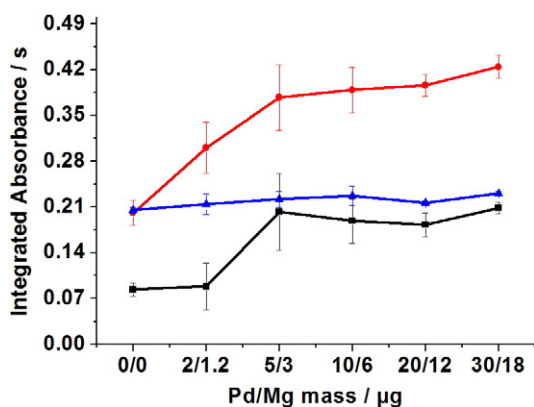


**Fig. 2.** Time-resolved absorbance spectrum in the vicinity of the 221.174 nm analytical line for Si using Rh (300  $\mu\text{g}$ ) as permanent modifier and Pd (20  $\mu\text{g}$ ) and Mg (12  $\mu\text{g}$ ) as chemical modifiers in solution. a) CRM Tea (0.176 mg;  $A_{\text{int}}$ : 0.1765 s); b) CRM Bush Branches and Leaves (0.030 mg;  $A_{\text{int}}$ : 0.3077 s)  $T_{\text{pyr}}$ : 1200  $^{\circ}\text{C}$ , and  $T_{\text{atom}}$ : 2650  $^{\circ}\text{C}$ .

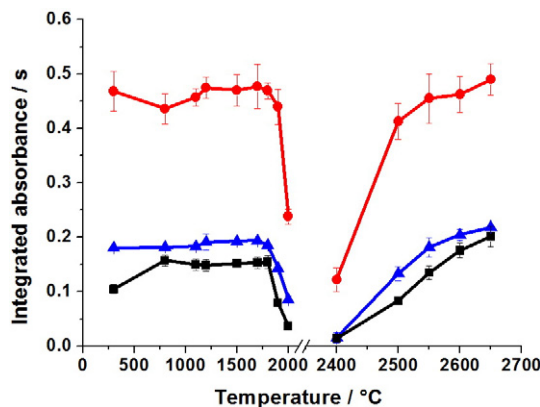
( $R = 0.9899$ ). Based on these results, all future measurements were performed using an  $A_{\text{int}}$  normalized for a mass of 0.05 mg for Bush Branches and Leaves and 0.10 mg for Tea, respectively.

### 3.5. Figures of merit

The figures of merit of the developed method are summarized in Table 3. Calibration curves have been established with a blank and six calibration solutions in the range of 30–600 ng Si. The LOD is defined as three times the standard deviation of 10 measurements of a blank



**Fig. 3.** Integrated absorbance of Si as a function of the amount of Pd/Mg added in a platform coated with Rh for certified reference materials of: ● CRM - Bush Branches and Leaves (normalized mass of 0.05 mg), ■ CRM - Tea (normalized mass of 0.1 mg) and ▲ aqueous standard solution (100 ng Si).  $T_{\text{pyr}}$ : 1200  $^{\circ}\text{C}$ , and  $T_{\text{atom}}$ : 2650  $^{\circ}\text{C}$ .



**Fig. 4.** Pyrolysis and atomization curves for determination of Si using 300  $\mu\text{g}$  Rh + 20  $\mu\text{g}$  Pd + 12  $\mu\text{g}$  Mg as modifiers for: ● CRM - Bush Branches and Leaves (normalized mass of 0.05 mg); ■ CRM - Tea (normalized mass of 0.1 mg) and of ▲ aqueous standard solution (100 ng Si).  $T_{\text{pyr}}$ : 1200  $^{\circ}\text{C}$ , and  $T_{\text{atom}}$ : 2650  $^{\circ}\text{C}$ .

solution, divided by the sensitivity (slope of the calibration curve), and the limit of quantification (LOQ) as ten times the standard deviation, based on the same blank measurements. In order to calculate the LOD and LOQ in  $\mu\text{g g}^{-1}$ , the maximum sample mass weighed onto the SS platform was taken into account. Blank measurements were carried out according to the “zero mass response” principle [42] using only modifiers on the SS platform. The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of the analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s.

Obviously, the LOD and LOQ obtained in this work cannot be compared directly with literature values, as various measures have been taken in order to reduce the sensitivity in accordance with the high Si content in the investigated samples. The use of a much less sensitive line, of only the CP for signal evaluation and a gas flow during atomization reduced the sensitivity by about two orders of magnitude compared to the most sensitive line and optimized conditions. Hence, the LOD of 5.0  $\mu\text{g g}^{-1}$ , obtained in this work with a sample mass of 0.50 mg, compares quite favorably with the LOD of 0.1  $\mu\text{g g}^{-1}$  reported by Resano et al. [14] for a sample mass of 1.0 mg, and the LOD of 0.03  $\mu\text{g g}^{-1}$  found by Huang and Krivan [1] using a maximum sample mass of 6 mg, both evaluating the main analytical line for Si determination using SS-GF AAS.

### 3.6. Analysis of CRM and plant material

Two CRMs were used in order to evaluate the accuracy of the developed method, both, NCS ZC73014 - Tea ( $0.099 \pm 0.009\%$  Si) and NCS ZC73349 - Bush Branches and Leaves ( $0.60 \pm 0.07\%$  Si) have a similar composition to the investigated samples. The Si concentration found for the two CRMs was  $0.102 \pm 0.005\%$  and  $0.58 \pm 0.05\%$ , respectively. Based on Student  $t$ -test with 95% confidence level, these results are in agreement with the certified values, since the  $t_{\text{calc}}$  was 1.3 and 1.6 ( $n = 5$ ) for Tea and Bush Branches and Leaves, respectively. The precision of the method, estimated by the RSD of five measurements, was better than 10% evaluating several samples and CRM.

**Table 3**

Figures of merit for the determination of Si in plant material using HR-CS SS-GF AAS. Using 300  $\mu\text{g}$  Rh as permanent modifier and 20  $\mu\text{g}$  Pd + 12  $\mu\text{g}$  Mg as chemical modifier in solution.  $T_{\text{pyr}}$ : 1200  $^{\circ}\text{C}$ , and  $T_{\text{atom}}$ : 2650  $^{\circ}\text{C}$ .

Calibration mass curve for Si	$A_{\text{int}}$ (s) = 0.0059 + 0.0016 m (ng)
R	0.9983
LOD (ng/ $\mu\text{g g}^{-1}$ )	2.5/5.0 <sup>a</sup>
LOQ (ng/ $\mu\text{g g}^{-1}$ )	8.3/17 <sup>a</sup>
$m_0$ (ng)	2.0

<sup>a</sup> Obtained for a sample mass of 0.50 mg.

**Table 4**

Concentration of Si expressed as average  $\pm$  standard deviation ( $n = 5$ ) in different plant materials using HR-CS SS-GF AAS. Using 300  $\mu\text{g}$  Rh as permanent modifier and 20  $\mu\text{g}$  Pd + 12  $\mu\text{g}$  Mg as chemical modifier in solution.  $T_{\text{pyr}}$ : 1200 °C, and  $T_{\text{atom}}$ : 2650 °C.

Plant material	Si concentration (% – w/w)
<i>Equisetum giganteum</i> L.	1.9 $\pm$ 0.2
<i>Camelia sinensis</i>	0.26 $\pm$ 0.03
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf	0.84 $\pm$ 0.07
*Ip1	0.47 $\pm$ 0.03
*Ip2	0.60 $\pm$ 0.05
**C4L56	0.048 $\pm$ 0.005
**C6L96	0.061 $\pm$ 0.007
**C3L46	0.048 $\pm$ 0.006
<i>Saccharum officinarum</i> L.	1.9 $\pm$ 0.2
<i>Prunus pérsica</i>	0.17 $\pm$ 0.01

\*Ip1 and Ip2: *Ilex paraguariensis*; \*\*C3L46, C4L56, C6L96: *Vitis vinifera*.

Ten different samples were evaluated, and the results are shown in Table 4. The Si content varied between 0.05 and 1.9% (w/w). Among the medicinal herbs, which are used to make tea, *E. giganteum* L. presented the highest Si content. Among the samples with high potential to be applied as biomass, *S. officinarum* L. was highlighted, showing almost 2% (w/w) Si.

#### 4. Conclusions

The developed method provides fast and reliable results for the high Si content in plant materials using HR-CS SS-GF AAS. The combination of Rh as permanent modifier with Pd/Mg as chemical modifier in solution was crucial to obtain accurate results without interferences for both CRMs and samples. Using a secondary analytical line and the minimum gas flow in the atomization stage, Si could be determined in different plant materials with levels varying over a wide range, with a minimum of pretreatment. Since the investigated teas and medicinal herbs presented high Si concentration, these samples can be considered a source of Si, and more investigations regarding their benefits should be performed. On the other hand, due to the high volume of biomass produced by agricultural management, and the growing concern about the disposal of these residues, suitable quality control also must be carried out, since Si content reached percentage levels in some biomass products.

#### Acknowledgments

The authors are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) for their financial support. M.G.R.V. (grant no. CNPq 305085/2011-5), J.B.A. (grant no. CNPq 305619/2014-4) and A.V.Z. (grant no. CNPq 151455/2014-5) have a research scholarship from CNPq; W.B. has scholarship from CAPES (grant no. 1533/2013). This work was supported by CNPq, Grant No. 305085/2011-5.

#### References

- M.D. Huang, V. Krivan, A direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry method for the determination of silicon in biological materials, *Spectrochim. Acta B* 62 (2007) 297–303.
- H.J. Heinrich, H. Kipphardt, Application of methane as a gaseous modifier for the determination of silicon using electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta B* 70 (2012) 68–73.
- F.H. Nielsen, Update on the possible nutritional importance of silicon, *J. Trace Elem. Med. Biol.* 28 (2014) 379–382.
- W. Dejneka, J. Lukasiak, Determination of total and bioavailable silicon in selected foodstuffs, *Food Control* 14 (2003) 193–196.
- C.D. Seaborn, F.H. Nielsen, Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver, *Biol. Trace Elem. Res.* 89 (2002) 251–261.
- H. Robberecht, R. van Cauwenbergh, V. van Vlaslaer, N. Hermans, Dietary silicon intake in Belgium: sources, availability from foods, and human serum levels, *Sci. Total Environ.* 407 (2009) 4777–4782.
- H.M. Macdonald, A.C. Hardcastle, R. Jugdaohsingh, W.D. Fraser, D.M. Reid, J.J. Powell, Dietary silicon interacts with estrogen to influence bone health: evidence from the Aberdeen prospective osteoporosis screening study, *Bone* 50 (2012) 681–687.
- M.H. Kim, Y.J. Bae, M.K. Choi, Y.S. Chung, Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption, *Biol. Trace Elem. Res.* 128 (2009) 239–247.
- D.M. Reffitt, N. Ogston, R. Jugdaohsingh, H.F.J. Cheung, B.A.J. Evans, R.P.H. Thompson, J.J. Powell, G.N. Hampson, Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro, *Bone* 32 (2003) 127–135.
- J.L. Domingo, M. Gomez, M. Teresa Colomina, Oral silicon supplementation: an effective therapy for preventing oral aluminum absorption and retention in mammals, *Nutr. Res.* 69 (2011) 41–51.
- S. Sripanyakorn, R. Jugdaohsingh, H. Elliott, C. Walker, P. Mehta, S. Shoukru, R.P.H. Thompson, J.J. Powell, The silicon content of beer and its bioavailability in healthy volunteers, *Br. J. Nutr.* 91 (2004) 403–409.
- R.A. Yokel, P. Ackrill, E. Burgess, J.P. Day, J.L. Domingo, T.P. Flaten, J. Savory, Prevention and treatment of aluminum toxicity including chelation therapy: status and research needs, *J. Toxicol. Environ. Health* 48 (1996) 667–683.
- S.J. Lugowski, D.C. Smith, J.Z. Lugowski, W. Peters, J. Semple, A review of silicon and silicone determination in tissue and body fluids – a need for standard reference materials, *J. Anal. Chem.* 360 (1998) 486–488.
- M. Resano, M. Aramendia, A.B. Volynsky, M.A. Belarra, Solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for the direct determination of trace amounts of silicon in polyamide. Comparison of the performance of platinum and palladium as chemical modifiers, *Spectrochim. Acta B* 59 (2004) 523–531.
- S. Hauptkorn, J. Pavel, H. Seltner, Determination of silicon in biological samples by ICP OES after non-oxidative decomposition under alkaline conditions, *J. Anal. Chem.* 370 (2001) 246–250.
- A.P. Krushevska, R.M. Barnes, Determination of low silicon concentrations in food and coral soil by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 981–984.
- P. Pohl, N. Vorapalawut, B. Bouyssié, R. Lobinski, Trace-level determination and insight in speciation of silicon in petrochemical samples by flow-injection high resolution ICP-MS and HPLC high resolution ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1461–1466.
- P.F. de Souza, D. Santos Junior, G.G. Arantes de Carvalho, L.C. Nunes, M.D.S. Gomes, M.B. Guerra, F.J. Krug, Determination of silicon in plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta, Part B* 83–84 (2013) 61–65.
- C.F. Wang, F.H. Tu, S.L. Jeng, C.J. Chin, The determination of silicon in airborne particulate matter by XRF and LA-ICP-MS, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 242 (1999) 97–103.
- S. Reidinger, M.H. Ramsey, S.E. Hartley, Rapid and accurate analyses of silicon and phosphorus in plants using a portable X-ray fluorescence spectrometer, *New Phytol.* 195 (2012) 699–706.
- M.D. Huang, V. Krivan, Direct solid-sampling electrothermal atomic absorption spectrometry methods for the determination of silicon in oxides of niobium, titanium and zirconium, *Spectrochim. Acta B* 56 (2001) 1645–1656.
- M.D. Huang, V. Krivan, A solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry method for direct determination of silicon in titanium pieces, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 367–371.
- M.S. Luz, P.V. Oliveira, Niobium carbide as permanent modifier for silicon determination in petrochemical products by emulsion-based sampling GF AAS, *Fuel* 116 (2014) 255–260.
- W. Frech, D.C. Baxter, E. Lundber, Spatial and temporal non-isothermality as limiting factors for absolute analysis by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 3 (1988) 21–25.
- C.J. Rademeyer, I. Vermaak, Atomization mechanisms of silicon in a graphite furnace atomizer, *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 347–351.
- G. Müller-Vogt, W. Wendl, Reaction kinetics in the determination of silicon by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Chem.* 53 (1981) 651–653.
- A. Mukhtar, A. Limbeck, A new approach for the determination of silicon in airborne particulate matter using electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 17–22.
- R.E. Sturgeon, S.S. Berman, Absorption pulse shifting in graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Chem.* 57 (1985) 1268–1275.
- M. Taddia, Electrothermal atomic absorption spectrometry of silicon vaporized from different surfaces, *Anal. Chim. Acta* 182 (1986) 231–237.
- H.M. Ortner, E. Kantuscher, Metal salt impregnation of graphite tubes for improved AAS silicon determination, *Talanta* 22 (1975) 581–586.
- J.M.P. Parajon, A. Sanz-Medel, Determination of silicon in biological fluids using metal carbide coated graphite tubes, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 111–116.
- A.N. Kulik, A.N. Bugai, Y.V. Rogul'skii, Effect on silicon atomization of tungsten assisted modification of atomic absorption spectrometer graphite furnaces, *J. Appl. Spectrosc.* 75 (2008) 10–14.
- P. Bermejo-Barrera, M.C. Barciela-Alonso, R. Dominguez-Gonzalez, A. Bermejo-Barrera, J.A.C. de Juan, J.M. Fraga-Bermudez, Silicon determination in milk by electrothermal atomic absorption spectrometry using palladium as chemical modifier, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 1290–1293.
- A.F. Shoukry, Y.M. Issa, R.A. Farghaly, M. Grasserbauer, H. Puxbaum, J. Rendl, Determination of silicon using electrothermal Zeeman atomic absorption spectrometry in presence of some transition metals as modifiers, *Fresenius J. Anal. Chem.* 360 (1998) 650–653.

- [35] G.R. Fuchs-Pohl, K. Solinska, H. Feig, Determination of silicon traces in process chemicals for semiconductor production by ET AAS, *Fresenius J. Anal. Chem.* 343 (1992) 711–714.
- [36] M. Fukushima, T. Ogata, K. Haraguchi, K. Nakagawa, S. Ito, M. Sumi, N. Asami, Determination of silicon in electrolyte solutions by electrothermal atomic absorption spectrometry using platinum as a chemical modifier, *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 999–1002.
- [37] Z.X. Zhuang, P.Y. Yang, X.R. Wang, Z.W. Deng, B.L. Huang, Preliminary study on the use of palladium as a chemical modifier for the determination of silicon by electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 1109–1111.
- [38] D.A. Nater, R.G. Burau, Alkali-metal fluoride matrix modifiers for the determination of trace levels of silicon by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Chem. Acta* 220 (1989) 83–92.
- [39] A.T. Duarte, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, B. Welz, J.B. de Andrade, Sequential determination of Cd and Cr in biomass samples and their ashes using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Talanta* 115 (2013) 55–60.
- [40] L. Bencs, K. György, M. Kardos, J. Osán, B. Alföldy, I. Varga, Z. Ajtony, N. Szoboszlai, Z. Stefánka, É. Széles, L. Kovács, Determination of trace elements in lithium niobate crystals by solid sampling and solution-based spectrometry methods, *Anal. Chim. Acta* 726 (2012) 1–8.
- [41] A.F. da Silva, B. Welz, A.J. Curtius, Noble metals as permanent chemical modifiers for the determination of mercury in environmental reference materials using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry and calibration against aqueous standards, *Spectrochim. Acta B* 57 (2002) 2031–2045.
- [42] U. Kurfürst, *Solid Sample Analysis: Direct and Slurry Sampling Using GF AAS and ETV-ICP*, first ed. Springer, Berlin, 1998.

### 3.3 ARTIGO N° 3

Título: Sequential and simultaneous determination of four elements in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry. Publicado na revista *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 31, páginas 1269-1277, em 2016.

#### Pontos importantes:

Foi desenvolvido um método analítico para determinação sequencial e simultânea de Cd, Cr, Fe e Al em amostras de solos *via* HR-CS GF AAS e MAS utilizando a análise direta de amostras sólidas. Para determinação de Al foi utilizada a molécula diatômica de AlH. Não foi necessária a adição de um reagente formador, ou seja, as amostras e as soluções padrões apresentavam hidrogênio suficiente para garantir a formação da molécula de AlH. Observou-se que a presença de Al na solução padrão aquosa multielementar interferiu na determinação do Cd. Neste contexto, o uso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foi capaz de minimizar esta interferência. A exatidão dos resultados foi comprovada com a análise de um CRM de solo.

CrossMark  
click for updatesCite this: *J. Anal. At. Spectrom.*, 2016, **31**, 1269

# Sequential and simultaneous determination of four elements in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry

W. Boschetti,<sup>a</sup> M. Orlando,<sup>a</sup> M. Dullius,<sup>b</sup> M. B. Dessuy,<sup>ac</sup> M. G. R. Vale,<sup>\*ac</sup> B. Welz<sup>cd</sup> and J. B. de Andrade<sup>c</sup>

An analytical method has been developed for the sequential and simultaneous determination of Cd, Cr, Fe and Al (via the AlH molecule) in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry and direct solid sample analysis. First, Cd (228.802 nm) was determined using 800 °C and 1700 °C as the pyrolysis and atomization temperatures, respectively. Subsequently, after changing the wavelength, Cr (425.433 nm), Fe (425.076 nm) and Al (425.315 nm) were determined simultaneously from the same sample aliquot using 2600 °C as the atomization (Cr and Fe) or vaporization (AlH) temperature. Al determination was carried out using the diatomic molecule AlH without adding a molecule-forming reagent. The interference caused by Al in Cd determination was minimized by using 10 μL of a 10% v/v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution in all measurements. Aqueous standard solutions were used for calibration and the limits of detection and quantification obtained were 7.3 and 24 pg mg<sup>-1</sup> for Cd, 0.13 and 0.45 ng mg<sup>-1</sup> for Cr, 0.07 and 0.23 μg mg<sup>-1</sup> for Fe and 0.42 and 1.4 μg mg<sup>-1</sup> for Al, respectively. The concentration values for Cd, Cr, Fe and Al obtained from the soil certified reference material (CRM) Montana Soil I (NIST SRM 2710a) analysis were in agreement with the reported ones. The precision of the measurements, expressed as the relative standard deviation, was better than 10%. Six soil samples from a vineyard field were investigated and the results are in accordance with the Brazilian legislation.

Received 1st February 2016  
Accepted 20th April 2016

DOI: 10.1039/c6ja00031b

www.rsc.org/jaas

## 1. Introduction

Soils are essential for life in the sense that they provide the medium for the growth of plants, which are the base for a complete food chain, and a habitat for many insects and other organisms. Soils act as a filtration system for surface water and as a carbon storage reservoir and maintain other environmental systems.<sup>1,2</sup> The preservation and improvement of soil quality is critical to sustain agricultural productivity and environmental quality for future generations.<sup>2</sup> This goal can be achieved with the proper use of soil amendments;<sup>3</sup> however, this procedure may also lead to soil contamination by potentially toxic elements.<sup>3,4</sup> In this context, soil analysis plays an important role

in the determination of the presence of nutrients and contaminants in soil samples.<sup>2-6</sup>

Cadmium, chromium and aluminum are known as potentially toxic elements for plants, being directly related to growth problems in roots, stems and leaves.<sup>7-11</sup> Aluminum may also compete with the absorption of K, Ca, Mg, Cu, Zn and Fe, which are essential for plant development, affecting their metabolic activities.<sup>11,12</sup> Iron is known to be a micronutrient for plants; it is related to metabolic activities and enzyme formation and it is essential for the photosynthesis process.<sup>13,14</sup> On the other hand, the accumulation of iron has been associated with foliar and root diseases in some plant species.<sup>15</sup>

In this context, regulations regarding the amount of Cd, Cr, Al and Fe present in soils must be followed. The Brazilian legislation establishes that a soil is apt for agriculture if it presents Cd and Cr concentrations below 1.0 and 100 mg kg<sup>-1</sup>, respectively;<sup>16,17</sup> however, nothing is mentioned about Fe and Al concentrations. Several studies in the literature discuss the effects of Al and Fe on plant development.<sup>9-15</sup> The authors report that the problems caused by Al and Fe are related to their amount and bioavailability in the soil composition and to the plant species. For example, according to the United States

<sup>a</sup>Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: mgrvale@ufrgs.br; Fax: +55 51 3308 7304; Tel: +55 51 3308 6278

<sup>b</sup>Vinicola Geisse, Linha Jansen s/n, 95700-000 Pinto Bandeira, RS, Brazil

<sup>c</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq-INCT de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil

<sup>d</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil

Environmental Protection Agency,<sup>15,18</sup> some plants, such as tobacco, might tolerate Fe and Al concentrations up to 1000 mg kg<sup>-1</sup>. This information provides to the soil analysis a vital function in order to control and maintain the soil quality.

Literature reports several techniques to determine Cd, Cr, Fe and Al in soil samples. The most commonly used ones are flame atomic absorption spectrometry (FAAS),<sup>19–22</sup> graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS),<sup>12,20,22,23</sup> inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES)<sup>24–26</sup> and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).<sup>27–29</sup> However, sample pretreatment procedures, which are time consuming and costly and involve the use of hazardous reagents, are required for most of these techniques. Depending on the selected procedure and the type of soil, satisfactory results are not always guaranteed due to the possibility of analyte losses, sample contamination or incomplete analyte recovery.<sup>24–31</sup>

Direct solid sample (SS) analysis is an attractive alternative in order to minimize sample preparation.<sup>32–35</sup> Moreover, the combination of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS) and SS analysis (HR-CS SS-GF AAS) can be considered a powerful analytical tool, making possible multi-element determination with a minimum sample pretreatment.<sup>36</sup>

Multi-element determination is one of the substantial innovations of the HR-CS AAS technique. Fast sequential determination from the same sample aliquot, as reported by Duarte *et al.*<sup>37</sup> for Cd and Cr determination in biomass samples, can be carried out if the elements present different thermal behaviors and distant analytical lines, *i.e.*, the wavelengths do not appear in the same spectral interval covered by the Charge Coupled Device (CCD) detector. The simultaneous determination of elements as reported by several authors<sup>38–43</sup> is possible if the analytes present similar thermal behaviors and analytical lines in the same spectral interval covered by the CCD detector. An additional possibility for simultaneous analysis, reported by some authors,<sup>44,45</sup> takes into account analytes with different thermal behaviors and wavelengths in the same spectral interval covered by the CCD detector.

Another improvement achieved by the HR-CS AAS technique is the possibility to determine different elements, including non-metals *via* molecular absorption spectrometry (MAS) using the rotational fine structure of the electron excitation spectra of diatomic molecules. This can be accomplished due to the association of a continuum source, a high-resolution monochromator and a CCD detector. Thus, any rotational line or a combination of lines of the spectrum of a diatomic molecule can be used for analytical purposes.<sup>36</sup> Several studies report the application of HR-CS AAS instrumentation for the determination of non-metals *via* diatomic molecules;<sup>46,47</sup> this alternate technique is denoted as HR-CS MAS.

The main goal of this work was to develop an analytical method for the sequential and simultaneous determination of Al (*via* the AlH molecule), Cd, Cr and Fe in soil samples *via* the direct analysis of solid samples by HR-CS GF AAS and MAS.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

All measurements were carried out using a model contrAA 700 high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer (Analytik Jena AG, Jena, Germany). This instrument is equipped with a flame and a transversely heated graphite tube atomizer in two different sample compartments and a high-intensity xenon short-arc lamp operating in a hot-spot mode. The high-resolution is achieved by combining a double monochromator (prism and echelle grating) with a linear CCD array detector with 588 pixels. The primary analytical line at 228.802 nm was used for Cd and secondary lines for Cr at 425.433 nm and Fe at 425.076 nm. For the determination of Al *via* the AlH molecule, the 425.315 nm wavelength was chosen. The integrated absorbance ( $A_{\text{int}}$ ) values for each analyte were obtained using the peak area of the center pixel (CP) only, for Cd and Cr, three pixels (CP  $\pm$  1) for AlH and five pixels (CP  $\pm$  2) for Fe. All four analytical lines were directly selected in the software supplied by the manufacturer, which automatically provides the  $A_{\text{int}}$  value for each analyte.

All experiments were carried out using pyrolytically coated solid sampling (SS) graphite tubes without a dosing hole (Analytik Jena, Part no. 407-A81.303) and SS graphite platforms (Analytik Jena, Part no. 407-152.023). A microbalance model MSA6.6S-000-DM (Sartorius, Göttingen, Germany) was used for weighing the samples directly onto the SS platform. A model SSA 5 manual solid sampling accessory (Analytik Jena) with a pre-adjusted pair of tweezers was used to transfer the SS platforms to the GF.

Argon with a purity of 99.996% (White Martins, São Paulo, Brazil) was used as purge gas with a flow rate of 2.0 L min<sup>-1</sup> during all stages, except during the atomization of Cr and Fe and vaporization of AlH, where the flow was stopped. For Cd, an internal flow rate of 0.1 L min<sup>-1</sup> was kept during the atomization stage in order to reduce the sensitivity.<sup>37,48</sup> The optimized graphite furnace temperature program used for all determinations is shown in Table 1.

### 2.2. Reagents

High-purity deionized water supplied by a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) was used to prepare analytical solutions and dilutions. Standard stock solutions of 1000 mg L<sup>-1</sup> Cd, Cr and Fe (SpecSol, São Paulo, Brazil) and 1000 mg L<sup>-1</sup> Al (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) were used, all of them in HNO<sub>3</sub> to avoid chloride interference, as AlCl might be formed under similar thermal conditions.<sup>49</sup> Adequate dilutions of 97% (m/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 35% (m/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 65% (m/v) HNO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> salt (all from Merck, Darmstadt, Germany) were used as chemical modifiers. All flasks were cleaned by soaking in a 1.4 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> solution for at least 24 h and rinsed abundantly with high-purity deionized water before use. The aqueous standard solutions were prepared by adequate dilutions of the Cd, Cr, Fe and Al stock solutions in a 10% (v/v) solution of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 2.3. Samples and sample preparation

Six soil samples were collected from a vineyard field with 10 000 m<sup>2</sup> in Pinto Bandeira (Rio Grande do Sul, Brazil). Approximately

Table 1 Temperature program for the determination of Cd, Al, Cr and Fe in soil samples by HR-CS SS-GF AAS/MAS

Stage	Temperature/°C	Ramp/°C s <sup>-1</sup>	Hold time/s	Gas flow rate/L min <sup>-1</sup>
Drying 1	120	30	30	2
Drying 2	150	30	30	2
Drying 3	180	10	30	2
Pyrolysis	800	300	20	2
Atomization <sup>a</sup>	1700	3000	6	0.1
<b>Cooling and change of wavelength</b>				
Pyrolysis	1700	500	1	2
Atomization <sup>b</sup> /vaporization <sup>c</sup>	2600	3000	7	0
Cleaning	2650	500	5	2

<sup>a</sup> Cd  $T_{\text{atom}}$ . <sup>b</sup> Cr and Fe  $T_{\text{atom}}$ . <sup>c</sup> AlH  $T_{\text{vap}}$ .

500 g of each soil sample was collected from different points of the vineyard and then transferred to plastic bags. After collection, the samples were dried in a dark room, protected from the wind and stored in plastic bags. The soil samples were subjected to a grinding process in a mortar and then sieved through a 200  $\mu\text{m}$  polyester sieve and kept in sealed plastic vials until further analysis.

A certified reference material (CRM), NIST SRM 2710a – Montana I Soil, (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), was employed for method optimization and validation. The sample mass, weighed onto the SS platforms and introduced into the graphite furnace, was between 0.02 mg and 0.25 mg. Since the sample mass was different for each measurement, the  $A_{\text{int}}$  was normalized for an appropriate sample mass for comparison.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Preliminary studies

Due to the high concentration of Cd and Cr in the samples, two different measures were taken to adjust the sensitivity to the linear range: for Cd determination, a gas flow rate of 0.1 L min<sup>-1</sup> was used in the atomization stage and for Cr determination, an alternate line at 425.433 nm was chosen. This secondary line of Cr has 33% of relative sensitivity in comparison with the most sensitive line at 357.869 nm. Within the spectral window of this secondary Cr line appear also an absorption line of Fe at 425.076 nm and some rotational lines of the AlH molecule. Fig. 1 shows the time-resolved absorbance spectrum of the soil CRM; the analytical lines of Cd (Fig. 1a), Cr, Fe and AlH (Fig. 1b) are identified. The proximity of these lines was explored in order to develop an analytical method for determining first Cd, and after changing the wavelength, for determining simultaneously Cr, Fe and Al from the same sample aliquot. As can be seen in Fig. 1b, Cr shows some minor tailing, which is typical for this element. To overcome Cr tail formation, Dobrowolski *et al.*<sup>50</sup> investigated the use of different chemical modifiers. In the present work, the tail did not influence the results as the standard and samples showed the same behavior and RSD values were lower than 10% for all measurements. No memory effect was observed; to verify this,

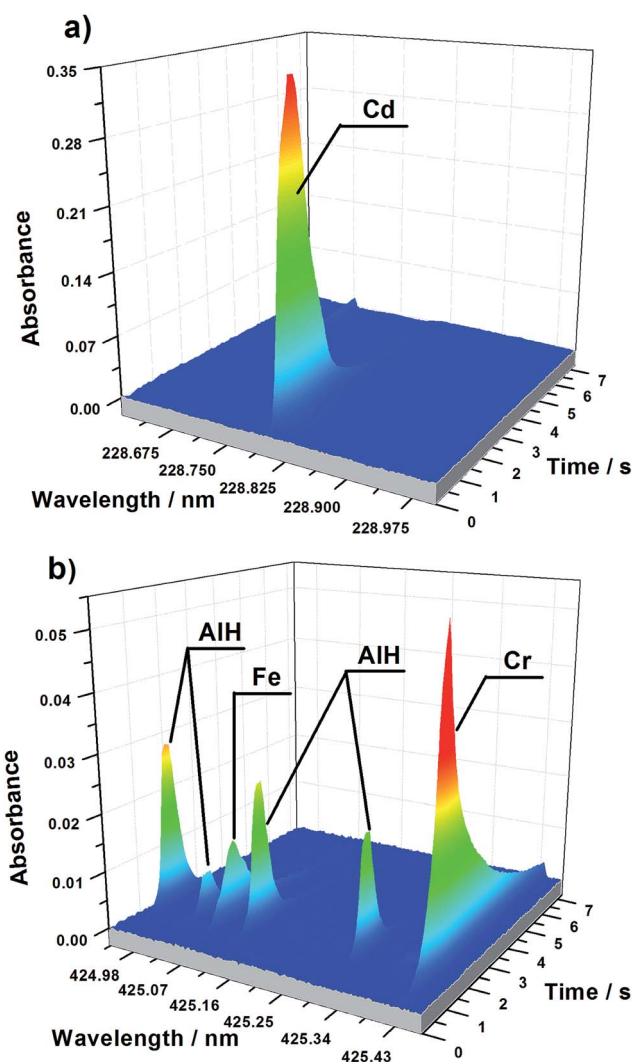


Fig. 1 Time-resolved absorbance spectrum of (a) Cd, and (b) Cr, Fe and AlH for the soil NIST SRM 2710a (0.026 mg), using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier. Cd :  $T_{\text{pyr}} = 800$  °C and  $T_{\text{atom}} = 1700$  °C; Cr, Fe and AlH  $T_{\text{atom/vap}} = 2600$  °C.

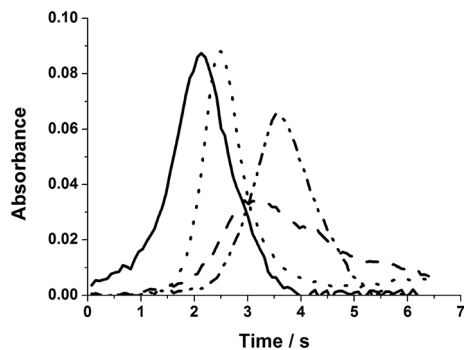


Fig. 2 Influence of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  on the interference of Al in the determination of Cd in aqueous standard solutions by HR-CS GF AAS; — 80 pg Cd without  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $A_{\text{int}} = 0.114$  s), ..... 80 pg Cd with 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $A_{\text{int}} = 0.107$  s), - - - 80 pg Cd and 5  $\mu\text{g}$  of Al without  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $A_{\text{int}} = 0.084$  s), — · — 80 pg Cd and 5  $\mu\text{g}$  of Al with 10  $\mu\text{L}$  10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $A_{\text{int}} = 0.102$  s);  $T_{\text{pyr}} = 800$   $^{\circ}\text{C}$  and  $T_{\text{atom}} = 1700$   $^{\circ}\text{C}$  using a gas flow rate of 0.1  $\text{L min}^{-1}$  in the atomization stage.

after a few soil samples, a measurement of the blank solution (10  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10%) was regularly carried out ( $A_{\text{int}}$  values lower than 0.008 s). In this context, the use of chemical modifiers was not investigated.

Initially, the effect of the minimum gas flow rate, used during the atomization of Cd, on the simultaneously evaluated elements Cr, Fe and Al was investigated in order to ensure that there were no losses of these elements during this stage. A multi-element aqueous standard solution and the soil CRM were measured several times, and the  $A_{\text{int}}$  values for Cr, Fe and AlH were not affected by the minimum gas flow during Cd atomization.

### 3.2. Investigation of AlH formation and interference

Identical peak profiles of AlH were obtained for evaluating the soil CRM, the soil samples and an aqueous standard solution; these analytical signals were in agreement with the reference spectrum found in the equipment library for AlH. As stated by Resano *et al.*,<sup>47</sup> to analyze a diatomic molecule by HR-CS GF MAS it is in most cases necessary to add an adequate molecule-forming reagent. In this context, different compounds were investigated as AlH forming reagents: (i) 1 and 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; (ii) 1 and 10% (v/v)  $\text{HNO}_3$ ; (iii) 1 and 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; (iv)  $\text{H}_2\text{O}$  and (v) 10% (m/v)  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ . This investigation was carried out with the CRM and a multi-element aqueous standard solution; ten microliters of each molecule-forming reagent solution was pipetted over the standard or CRM. No significant improvement in the  $A_{\text{int}}$  values was observed with any of the molecule-forming reagents. This means that both the CRM and aqueous standard solution have sufficient hydrogen in their composition to guarantee the AlH molecule formation. It was also observed that the analytical signals of Fe and Cr were not affected by the investigated molecule-forming reagents.

For the Cd signal, significant differences in the peak profile could be observed for an aqueous standard solution with and without Al, as shown in Fig. 2. Literature reports that Al can be considered an interferent for Cd determination by

electrothermal AAS, using a molybdenum tube atomizer.<sup>51</sup> Interestingly, Al was recently used as a chemical modifier added into solution<sup>52</sup> or as a permanent modifier<sup>53</sup> for Cd determination by GF AAS. This need not be considered a contradiction, as Al in fact delays the appearance time and the peak maximum of Cd significantly, as can be seen in Fig. 2. At the same time, however,  $A_{\text{int}}$  is reduced significantly due to the faster diffusion of Cd atoms at the higher effective gas phase temperature, which is a well-known effect. Obviously, the use of Al as a modifier could not be considered here, as Al had to be determined as well. In order to minimize the effects of Al on the analytical signal of Cd, observed in the molybdenum atomizer, Ohta *et al.*<sup>51</sup> reported the use of 1  $\mu\text{L}$  of 1.0% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution, which completely eliminated the interference if the Al concentration was not too high.

In the present study, a similar behavior was observed for the addition of  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; the use of 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  resulted in a similar appearance time with and without Al, improved the Cd peak symmetry and increased the  $A_{\text{int}}$  values of Cd for an aqueous standard solution, as can be seen in Fig. 2. For comparison, a mono-elemental aqueous standard solution of Cd was measured with and without  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

However, for the samples and the CRM, no significant difference was observed in the peak shape of Cd with and without the addition of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution (Fig. 3). Moreover, comparing Fig. 2 and 3, the peak shapes of Cd obtained from the soil CRM and Cd standard solution, both with 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , are similar. This indicates that the interaction between Cd and Al in the samples and the CRM is much lower than that in the standard solution, which may be attributed to the chemical form in which Cd and Al are present in the sample.

The evaluation of the amount of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  necessary to reduce the Al interference on the Cd signal is shown in Fig. 4. This figure compares the  $A_{\text{int}}$  values for the CRM and a Cd standard solution (with 5  $\mu\text{g}$  Al) without the addition of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and using 10  $\mu\text{L}$  of four  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solutions of different concentrations. The peaks obtained without  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and with 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution were broader and more asymmetrical than those obtained with higher  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentration. Therefore, 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)

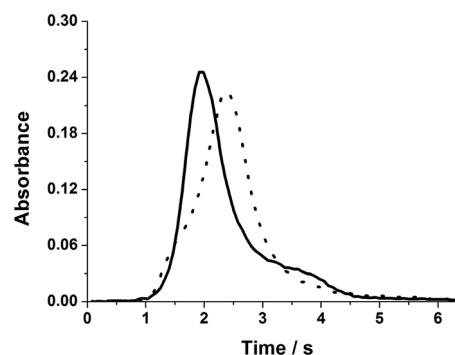


Fig. 3 Influence of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  on the interference of Al on the analytical signal of Cd in a soil CRM by HR-CS SS-GF AAS; — soil CRM without  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.025 mg,  $A_{\text{int}} = 0.295$  s); ..... soil CRM with 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.028 mg,  $A_{\text{int}} = 0.328$  s);  $T_{\text{pyr}} = 800$   $^{\circ}\text{C}$  and  $T_{\text{atom}} = 1700$   $^{\circ}\text{C}$  using a gas flow rate of 0.1  $\text{L min}^{-1}$  in the atomization stage.



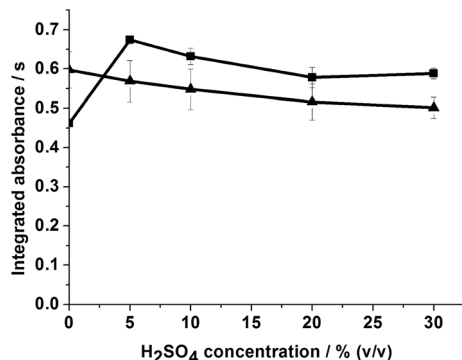


Fig. 4 Investigation of different  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrations to minimize the Al interference in Cd determination by HR-CS SS-GF AAS; ■ 500 pg Cd and 5  $\mu\text{g}$  Al, ▲ soil CRM ( $A_{\text{int}}$  values normalized to a mass of 0.05 mg). A volume of 10  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution was used.  $T_{\text{pyr}} = 800$  °C and  $T_{\text{atom}} = 1700$  °C using a gas flow rate of 0.1  $\text{L min}^{-1}$  in the atomization stage.

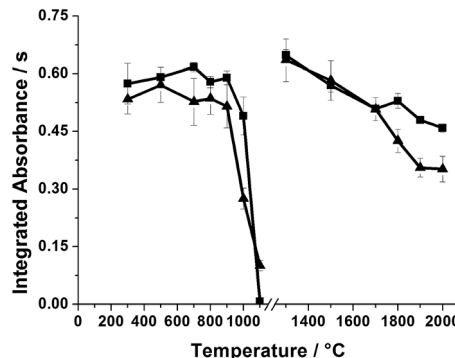


Fig. 5 Pyrolysis and atomization curves of Cd using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier. ■ 500 pg Cd aqueous standard solution (with 400 pg Cr, 2  $\mu\text{g}$  Fe and 5  $\mu\text{g}$  Al) and ▲ soil CRM ( $A_{\text{int}}$  values normalized to a mass of 0.05 mg).  $T_{\text{atom}}$  for pyrolysis curves = 1700 °C.  $T_{\text{pyr}}$  for atomization curves = 800 °C. A gas flow rate of 0.1  $\text{L min}^{-1}$  was used in the atomization stage.

$\text{H}_2\text{SO}_4$  was chosen as the best condition. The  $A_{\text{int}}$  values of aqueous standard solutions prepared in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  were compared with those obtained by adding the acid over the standard solution (on the platform) and no difference between them was observed. Thus, in order to simplify the experimental procedure, all standard solutions were prepared in 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . It should be mentioned that the use of sulfuric acid decreased the life time of the SS graphite tube and platform to approximately 180 cycles.

### 3.3. Graphite furnace temperature program

The temperature program was optimized using the soil CRM and an aqueous standard solution with 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  Cd, 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  Cr, 200  $\text{mg L}^{-1}$  Fe and 500  $\text{mg L}^{-1}$  Al in the presence of  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Taking into account that a sequential determination will be performed, the pyrolysis ( $T_{\text{pyr}}$ ) and atomization ( $T_{\text{atom}}$ ) temperatures of the most volatile element (Cd) were optimized first. Fig. 5 shows the Cd pyrolysis and atomization curves.

In Fig. 5, a plateau is observed up to a pyrolysis temperature of 900 °C for the standard solution and for the soil CRM, which is very high for Cd in the absence of any of the typically used chemical modifiers. This high thermal stability of Cd may be attributed to the Al effect and the presence of  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , performing as chemical modifiers. Moreover, at 800 °C, the volatile matrix components were eliminated and the relative standard deviation (RSD) values were lower than those for the other  $T_{\text{pyr}}$  investigated; thus, a temperature of 800 °C was used in all further experiments.

During this study, the  $A_{\text{int}}$  values of Cr, Fe and AlH were also monitored, using a second  $T_{\text{atom/vap}}$  of 2600 °C, with the  $T_{\text{atom}}$  of Cd as a second  $T_{\text{pyr}}$  for these elements. Fig. 6 shows that the analytical signal for Cr remained stable up to 2000 °C; however, for Fe and AlH, the  $A_{\text{int}}$  values decreased using temperatures higher than 1800 °C. This effect was more significant for the analytical signal of AlH, probably due to the increasing dissociation of the AlH molecule at higher temperatures. For this reason, a  $T_{\text{atom}}$  of 1700 °C was chosen for Cd according to the

most symmetric and reproducible peaks and highest  $A_{\text{int}}$  values (Fig. 5). This  $T_{\text{atom}}$  can also be considered a second  $T_{\text{pyr}}$  for the more stable elements Al, Cr and Fe. The  $T_{\text{pyr}}$  and  $T_{\text{atom}}$  for Cd in the following measurements were fixed at 800 °C and 1700 °C, respectively.

After establishing the  $T_{\text{pyr}}$  and  $T_{\text{atom}}$  for Cd, the  $T_{\text{atom}}$  values for Cr and Fe and  $T_{\text{vap}}$  for AlH were optimized. The results are shown in Fig. 7. It is important to highlight that these three species were monitored simultaneously. A temperature of 2600 °C presented the best results for Cr and Fe, with high  $A_{\text{int}}$  values and the most reproducible peaks. For AlH, symmetric analytical signals were observed above 2400 °C. Although the  $A_{\text{int}}$  values for the AlH molecule decreased slightly for higher  $T_{\text{vap}}$ , the  $T_{\text{atom/vap}}$  was fixed at 2600 °C in order to guarantee the complete atomization of Cr and Fe. This condition does not influence the Al quantification, *via* the AlH molecule, since the standard solution and the CRM experienced the same moderate reduction of sensitivity at a temperature of 2600 °C.

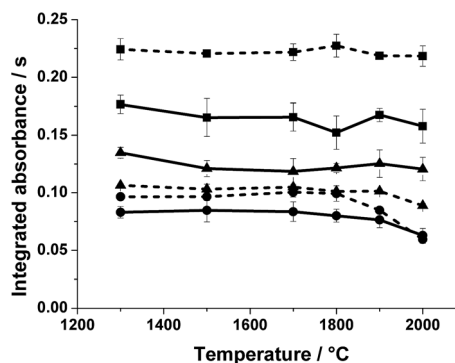


Fig. 6 Integrated absorbance values for ■ Cr, ▲ Fe and ● AlH: ... in a multi-element aqueous standard solution, and — in a soil CRM, monitored during the optimization of the Cd atomization temperature, using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier, and a  $T_{\text{atom/vap}}$  of 2600 °C for the less volatile elements. The  $T_{\text{atom}}$  of Cd might be considered a second  $T_{\text{pyr}}$  for Cr, Fe and Al. The CRM  $A_{\text{int}}$  values were normalized to a mass of 0.05 mg.

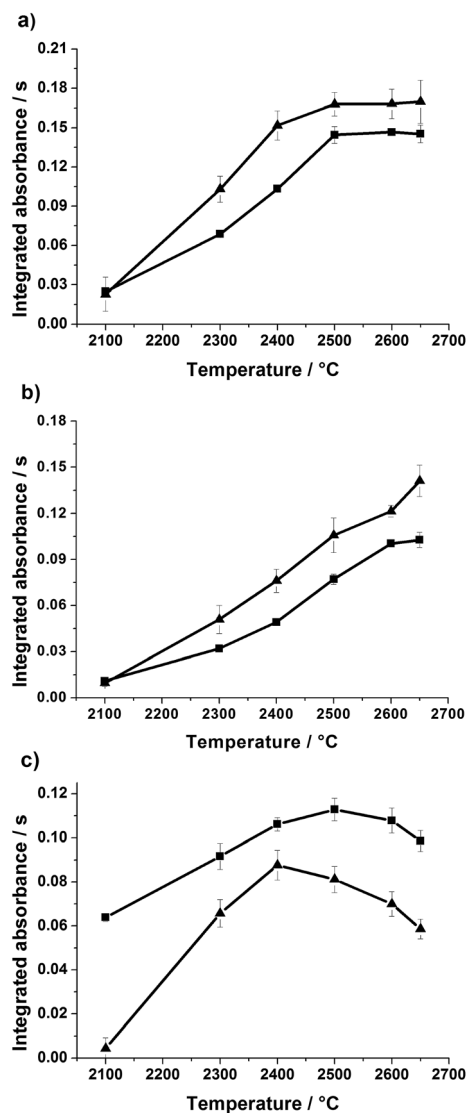


Fig. 7 Atomization curves of (a) Cr and (b) Fe and (c) vaporization curve of AlH using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier: ■ aqueous standard solution with 400 pg Cr, 2  $\mu\text{g}$  Fe and 5  $\mu\text{g}$  Al and ▲ soil CRM ( $A_{\text{int}}$  values normalized for a sample mass of 0.05 mg);  $T_{\text{pyr}} = 800$   $^{\circ}\text{C}$ .

After the optimization of the temperature program, the influence of the mass of the CRM and soil samples, inserted into the furnace, on the  $A_{\text{int}}$  values was investigated. For all analytes, Cd, Cr, Fe and AlH, acceptable correlation coefficients, higher than 0.955, were obtained, evaluating masses from 0.02 to 0.25 mg of the CRM and sample. For higher CRM and soil masses (above 0.25 mg), the  $A_{\text{int}}$  and the repeatability for Cd and Cr decreased as well as the correlation coefficient. Hence, the maximum sample mass that could be inserted into the furnace, considering the investigated soil samples, was 0.25 mg.

#### 3.4. Figures of merit

Calibration curves were established with a blank and six calibration solutions within the ranges of 0.05–0.8 ng Cd, 0.2–4.0

Table 2 Figures of merit for Cd, Cr, Fe and Al determination in soil samples by HR-CS SS-GF AAS/MAS using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier.  $T_{\text{pyr}} = 800$   $^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{atom}} = 1700$   $^{\circ}\text{C}$  (Cd) and  $T_{\text{atom/vap}} = 2600$   $^{\circ}\text{C}$  (Cr, Fe, and Al)<sup>a</sup>

Analyte	LOD	LOQ	$m_0$
Cd	7.3 pg $\text{mg}^{-1}$	24 pg $\text{mg}^{-1}$	3.9 pg
Cr	0.13 ng $\text{mg}^{-1}$	0.45 ng $\text{mg}^{-1}$	27 pg
Fe	0.07 $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$	0.23 $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$	0.09 $\mu\text{g}$
Al	0.42 $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$	1.4 $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$	0.18 $\mu\text{g}$

<sup>a</sup> LOD and LOQ calculated for 0.25 mg of sample.

ng Cr, 1.0–16  $\mu\text{g}$  Fe and 2.5–40  $\mu\text{g}$  Al. The limit of detection (LOD) was calculated as three times the standard deviation of 10 measurements of a blank, divided by the sensitivity (slope of the calibration curve), and the limit of quantification (LOQ) as ten times the standard deviation of the same 10 measurements. Blank measurements were carried out according to the “zero mass response” principle<sup>32</sup> using only the modifier (10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) on the SS platform. The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of the analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s. The figures of merit of the developed method are summarized in Table 2; the LOD and LOQ were calculated for the maximum sample mass weighed onto the SS platform, *i.e.*, 0.25 mg.

Due to the high content of Cd, Cr, Fe and Al present in the soil samples, several measures were taken to reduce the sensitivity of the results: a gas flow rate of 0.1  $\text{L min}^{-1}$  in the atomization stage for Cd, and secondary analytical lines for Cr (425.433 nm), Fe (425.076 nm) and AlH (425.315 nm). In addition, only the center pixel was used to measure the  $A_{\text{int}}$  values for Cd and Cr, which reduced the sensitivity to about 40–50% compared to the use of three pixels. In this context, the LOD and LOQ presented in this work cannot be directly compared with those reported in the literature. Moreover, the LOD and LOQ presented in Table 2 are comfortably lower than the maximum limits established for Cd and Cr by Brazilian legislation.

#### 3.5. Analysis of the CRM and the soil samples

The soil CRM was evaluated in order to check the trueness of the developed method. The concentration values obtained for Cd, Cr, Fe and Al were in agreement with the certified ones. Table 3 shows the certified and the found concentrations and *t*-Student calculated values ( $t_{\text{calc}}$ ). The comparison of the found

Table 3 NIST SRM 2710a concentration values for Cd, Cr, Fe and Al by HR-CS SS-GF AAS/MAS using 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier.  $T_{\text{pyr}} = 800$   $^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{atom}} = 1700$   $^{\circ}\text{C}$  and  $T_{\text{atom/vap}} = 2600$   $^{\circ}\text{C}$ . (Mean  $\pm$  sd,  $n = 5$ )

	Certified (conc. $\pm$ sd)	Found (conc. $\pm$ sd)	$t_{\text{calc}}$
Cd/ng $\text{mg}^{-1}$	12.3 $\pm$ 0.3	11 $\pm$ 1	1.9
Cr/ng $\text{mg}^{-1}$	23 $\pm$ 6	22 $\pm$ 3	0.57
Fe/%	4.32 $\pm$ 0.08	4.6 $\pm$ 0.4	1.4
Al/%	5.95 $\pm$ 0.05	5.9 $\pm$ 0.5	0.36

**Table 4** Concentration of Cd, Cr, Fe and Al in soil samples from 6 different sites of a vineyard field using HR-CS SS-GF AAS/MAS and 10  $\mu\text{L}$  of 10% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  as the chemical modifier.  $T_{\text{pyr}} = 800\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{atom}} = 1700\text{ }^\circ\text{C}$  and  $T_{\text{atom/vap}} = 2600\text{ }^\circ\text{C}$ . (Mean  $\pm$  sd,  $n = 5$ )

Soil samples	Cd/ng $\text{mg}^{-1}$	Cr/ng $\text{mg}^{-1}$	Fe/ $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$	Al/ $\mu\text{g}$ $\text{mg}^{-1}$
Site 1	0.47 $\pm$ 0.05	19 $\pm$ 2	58 $\pm$ 5	69 $\pm$ 7
Site 2	0.20 $\pm$ 0.02	16 $\pm$ 1	68 $\pm$ 8	95 $\pm$ 11
Site 3	0.28 $\pm$ 0.03	18 $\pm$ 1	68 $\pm$ 5	70 $\pm$ 9
Site 4	0.16 $\pm$ 0.01	14 $\pm$ 2	101 $\pm$ 13	93 $\pm$ 3
Site 5	0.28 $\pm$ 0.03	20 $\pm$ 1	64 $\pm$ 2	102 $\pm$ 10
Site 6	0.17 $\pm$ 0.01	15 $\pm$ 1	69 $\pm$ 6	105 $\pm$ 10

and certified concentrations for each element was performed through a Student  $t$ -test with 95% confidence level ( $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$ ;  $t_{\text{crit}} = 2.7$ ). The good agreement of the results confirms that the developed method is trustworthy and can be used to determine Cd, Cr, Fe and Al in soil samples. Considering all measurements, the RSD values were around or lower than 10%, proving that the developed method provides precise results. The total analysis time per sample for five replicates, including weighing the sample aliquot, is around 30 min, which is clearly less than the time required for techniques that require sample digestion. However, a direct and fair comparison of various techniques is almost impossible, as the total analysis time depends on many more factors, including the number of elements that have to be determined.

On evaluating the results for the vineyard field soil samples (Table 4), the concentrations found for Cd and Cr are in agreement with the Brazilian legislation, providing to this soil the status of apt for agriculture. Great amounts of Fe and Al were observed in these soil samples. The Fe concentration values suggest that this might be a nutritive soil for plants. However, considering the high Al content, special care must be taken in order to minimize its absorption by plants.

## 4. Conclusions

It was possible to develop a simple, fast and accurate analytical method to perform sequential and simultaneous determination of four elements from one sample aliquot by HR-CS GF AAS and MAS in soil samples using direct solid sample analysis. It is worth mentioning that one of the four analytes (Al) was determined *via* its diatomic molecule, AlH, by HR-CS GF MAS. The use of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  minimized the interference caused by Al in Cd determination in aqueous standard solutions. The method was successfully employed to the determination of Cd, Cr, Fe and Al in six soil samples from a vineyard field. The results for Cd and Cr are in agreement with the Brazilian legislation, highlighting that Fe and Al presented high concentrations in these soil samples. It might be expected that this method could be extended to the analysis of other soil samples, although a significantly different soil composition might require some minor changes in the analytical protocol. In other words, the Cd, Cr, Fe and Al concentration might be different, depending on the soil composition, and simple adjustments, such as the sample mass inserted into the furnace, the gas flow rate and the

number of pixels used to evaluate the analytical signals, should overcome these issues.

## Acknowledgements

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq – INCT de Energia e Ambiente, Salvador, BA, Brazil, and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support and scholarships.

## References

- 1 N. K. Fageria, V. C. Baligar and C. A. Jones, *Growth and Mineral Nutrition of Field Crops*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 2010.
- 2 J. A. Baldock and J. O. Skjemstad, Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack, *Org. Geochem.*, 2000, **31**, 697–710.
- 3 K. F. Isherwood, *Mineral Fertilizer Use and the Environment*, International Fertilizer Industry Association, Paris, 2000.
- 4 B. J. Alloway, *Heavy Metals in Soil: Trace Metals and Metalloids in Soil and Their Bioavailability*, Springer Science & Business Media, London, 2012.
- 5 G. Nziguheba and E. Smolders, Inputs of trace elements in agricultural soils *via* phosphate fertilizers in European countries, *Sci. Total Environ.*, 2008, **390**, 53–57.
- 6 B. Wei and L. Yang, A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China, *Microchem. J.*, 2010, **94**, 99–107.
- 7 P. Babula, V. Adam, R. Opatrilova, J. Zehnalek, L. Havel and R. Kizek, Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review, *Environ. Chem. Lett.*, 2008, **6**, 189–213.
- 8 C. M. Aelion, H. T. Davis, S. McDermott and A. B. Lawson, Metal concentrations in rural topsoil in South Carolina: potential for human health impact, *Sci. Total Environ.*, 2008, **402**, 149–156.
- 9 P. Zhou, F. Yang, X. Ren, B. Huang and Y. An, Phytotoxicity of aluminum on root growth and indole-3-acetic acid accumulation and transport in alfalfa roots, *Environ. Exp. Bot.*, 2014, **104**, 1–8.
- 10 P. Das, S. Samantaray and G. R. Rout, Studies on cadmium toxicity in plants: a review, *Environ. Pollut.*, 1997, **98**, 29–36.
- 11 C. Poschenrieder, B. Gunsé, I. Corrales and J. Barceló, A glance into aluminum toxicity and resistance in plants, *Sci. Total Environ.*, 2008, **400**, 356–368.
- 12 C. R. Lee, Influence of aluminum on plant growth and mineral nutrition of potatoes, *Agron. J.*, 1971, **63**, 604–608.
- 13 J. Abadía, S. Vázquez, R. Rellán-Álvarez, H. El-Jendoubi, A. Abadía, A. Fernández and A. F. López-Millán, Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis, *Plant Physiol. Biochem.*, 2011, **49**, 471–482.
- 14 M. Pestana, P. J. Correia, T. Saavedra, F. Gama, A. Abadía and A. de Varennes, Development and recovery of iron deficiency by iron resupply to roots or leaves of strawberry plants, *Plant Physiol. Biochem.*, 2012, **53**, 1–5.

- 15 *Ecological soil screening level for iron*, United States Environmental Protection Agency, Directive 9285.7-69, 2003, accessed 2015.
- 16 CONAMA, *Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução no. 420/2009*, accessed 2015.
- 17 FEPAM, *Fundação Estadual de Proteção Ambiental, portaria no. 85/2014*, accessed 2015.
- 18 *Ecological soil screening level for aluminum*, United States Environmental Protection Agency, Directive 9285.7-60, 2003, accessed 2015.
- 19 H. Hödrejörv and A. Vaarmann, Pseudo-total analysis for metallic elements in siliceous soil by acid digestion and flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 1999, **396**, 293–301.
- 20 J. Ščančar, R. Milačič, M. Stražar and O. Burica, Total metal concentrations and partitioning of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni and Zn in sewage sludge, *Sci. Total Environ.*, 2000, **250**, 9–19.
- 21 R. A. Sutherland and F. M. G. Tack, Determination of Al, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in certified reference materials using the optimized BCR sequential extraction procedure, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **454**, 249–257.
- 22 C. Micó, L. Recatalá, M. Peris and J. Sánchez, Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis, *Chemosphere*, 2006, **65**, 863–872.
- 23 R. Dobrowolski, Determination of Ni and Cr in soils by slurry graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1996, **51**, 221–227.
- 24 E. Meers, G. Du Laing, V. Unamuno, A. Ruttens, J. Vangronsveld, F. M. G. Tack and M. G. Verloo, Comparison of cadmium extractability from soils by commonly used single extraction protocols, *Geoderma*, 2007, **141**, 247–259.
- 25 V. Sandroni, C. M. M. Smith and A. Donovan, Microwave digestion of sediment, soils and urban particulate matter for trace metal analysis, *Talanta*, 2003, **60**, 715–723.
- 26 O. Abollino, M. Aceto, M. Malandrino, E. Mentasti, C. Sarzanini and F. Petrella, Heavy metals in agricultural soils from Piedmont, Italy. Distribution, speciation and chemometric data treatment, *Chemosphere*, 2002, **49**, 545–557.
- 27 S. Melaku, R. Dams and L. Moens, Determination of trace elements in agricultural soil samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry: microwave acid digestion versus aqua regia extraction, *Anal. Chim. Acta*, 2005, **543**, 117–123.
- 28 A. R. Iruretagoiena, S. F. O. de Vallejuelo, A. Gredilla, C. G. Ramos, M. L. S. Oliveira, G. Arana, A. de Diego, J. M. Madariaga and L. F. O. Silva, Fate of hazardous elements in agricultural soils surrounding a coal Power plant complex from Santa Catarina (Brazil), *Sci. Total Environ.*, 2015, **508**, 374–382.
- 29 A. M. D. Mastro, A. Londonio, R. J. Rebagliati, M. Pereyra, L. Dawidowski, D. Gómez and P. Smichowski, Plasma-based techniques applied to the determination of 17 elements in partitioned top soils, *Microchem. J.*, 2015, **123**, 224–229.
- 30 J. Sastre, A. Sahuquillo, M. Vidal and G. Rauret, Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **462**, 59–72.
- 31 M. Bettinelli, G. M. Beone, S. Spezia and C. Baffi, Determination of heavy metals in soils and sediments by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis, *Anal. Chim. Acta*, 2000, **424**, 289–296.
- 32 U. Kurfürst, *Solid Sample Analysis – Direct and Slurry Sampling using GFAAS and ETV-ICP*, Springer-Verlag, Berlin, 1998.
- 33 U. Kurfürst, M. Kempeneer, M. Stoepler and O. Schuierer, An automated solid sample analysis system, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1990, **337**, 248–252.
- 34 M. G. R. Vale, N. Oleszczuk and W. N. L. dos Santos, Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry—a critical review of the development between 1995 and 2005, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2006, **41**, 377–400.
- 35 M. Resano, M. Aramendía and M. A. Belarra, High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct analysis of solid samples and complex materials: a tutorial review, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 2229–2250.
- 36 M. Resano, M. R. Flórez and E. García-Ruiz, High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2013, **88**, 85–97.
- 37 A. T. Duarte, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale, B. Welz and J. B. Andrade, Sequential determination of Cd and Cr in biomass samples and their ashes using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Talanta*, 2013, **115**, 55–60.
- 38 I. M. Dittert, J. S. A. Silva, R. G. O. Araujo, A. J. Curtius, B. Welz and H. Becker-Ross, Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2009, **64**, 537–543.
- 39 I. M. Dittert, J. S. A. Silva, R. G. O. Araujo, A. J. Curtius, B. Welz and H. Becker-Ross, Simultaneous determination of cobalt and vanadium in undiluted crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2010, **25**, 590–595.
- 40 D. P. C. Quadros, E. S. Chaves, F. G. Lepri, D. L. G. Borges, B. Welz, H. Becker-Ross and A. J. Curtius, Evaluation of Brazilian and Venezuelan crude oil samples by means of the simultaneous determination of Ni and V as their total and non-volatile fractions using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Energy Fuels*, 2010, **24**, 5907–5911.

- 41 B. Gómez-Nieto, M. J. Gismera, M. T. Sevilla and J. R. Procopio, Simultaneous and direct determination of iron and nickel in biological solid samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2013, **116**, 860–865.
- 42 M. Resano, E. Bolea-Fernandez, E. Mozas, M. R. Florez, P. Grinberg and R. E. Sturgeon, Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and Pb in carbon nanotubes by means of solid sampling high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2013, **28**, 657.
- 43 L. Rello, A. C. Lapeña, M. Aramendía, M. A. Belarra and M. Resano, A dried urine spot test to simultaneously monitor Mo and Ti levels using solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2013, **81**, 11–19.
- 44 L. M. G. Santos, R. G. O. Araujo, B. Welz, S. C. Jacob, M. G. R. Vale and H. Becker-Ross, Simultaneous determination of Cd and Fe in grain products using direct solid sampling and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2009, **78**, 577–583.
- 45 F. Vignola, D. L. G. Borges, A. J. Curtius, B. Welz and H. Becker-Ross, Simultaneous determination of Cd and Fe in sewage sludge by high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sampling, *Microchem. J.*, 2010, **95**, 333–336.
- 46 B. Welz, F. G. Lepri, R. G. O. Araujo, S. L. C. Ferreira, M. D. Huang, M. Okruss and H. Becker-Ross, Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces—a review, *Anal. Chim. Acta*, 2009, **647**, 137–148.
- 47 M. Resano, M. R. Flórez and E. García-Ruiz, Progress in the determination of metalloids and non-metals by means of high-resolution continuum source atomic or molecular absorption spectrometry. A critical review, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2014, **406**, 2239–2259.
- 48 L. Bencs, K. György, M. Kardos, J. Osán, B. Alfödy, I. Varga, Z. Ajtony, N. Szoboszlai, Z. Stefánka, É. Széles and L. Kovács, Determination of trace elements in lithium niobate crystals by solid sampling and solution-based spectrometry methods, *Anal. Chim. Acta*, 2012, **726**, 1–8.
- 49 F. V. Nakadi, M. A. M. S. da Veiga, M. Aramendía, E. García-Ruiz and M. Resano, Chlorine isotope determination *via* the monitoring of the AlCl molecule by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry – a case study, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2015, **30**, 1531–1540.
- 50 R. Dobrowolski, I. Pawlowska-Kapusta and J. Dobrzynska, Chromium determination in food by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using classical and permanent modifiers, *Food Chem.*, 2012, **132**, 597–602.
- 51 K. Ohta, W. Aoki and T. Mizuno, Elimination of interferences in electrothermal atomization atomic absorption spectrometry of cadmium, *Talanta*, 1988, **35**, 831–836.
- 52 M. M. S. Junior, L. O. B. Silva, D. J. Leão and S. L. C. Ferreira, Analytical strategies for determination of cadmium in Brazilian vinegar samples using ET AAS, *Food Chem.*, 2014, **160**, 209–213.
- 53 D. G. da Silva, M. M. S. Junior, L. O. B. Silva, L. A. Portugal, G. D. Matos and S. L. C. Ferreira, Determination of cadmium in rice by electrothermal atomic absorption spectrometry using aluminum as permanent modifier, *Anal. Methods*, 2011, **3**, 2495.

### 3.4 ARTIGO N° 4

Título: New analytical method for total fluorine determination in soil samples *via* CaF diatomic molecule using high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. Publicado na revista *Microchemical Journal*, volume 130, páginas 276-280, em 2016.

#### Pontos importantes:

Foi desenvolvido um método analítico para determinação de F em amostras de solo *via* HR-CS GF MAS utilizando a análise direta de amostras sólidas. Foram analisadas amostras de solo de zona rural e urbana. Para determinação de F foi empregada a molécula diatômica de CaF. Esta molécula apresenta como vantagem o reagente formador, o Ca, que também age como modificador químico. Um CRM de sedimento de lago foi utilizado para avaliar a exatidão dos resultados.



# New analytical method for total fluorine determination in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry



Wiliam Boschetti <sup>a</sup>, Morgana B. Dessuy <sup>a,b,\*</sup>, Antônio H. Pizzato <sup>a</sup>, Maria Goreti R. Vale <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq–INCT de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 30 September 2016

Accepted 3 October 2016

Available online 5 October 2016

### Keywords:

CaF diatomic molecule

Soil samples

HR-CS GF MAS

Direct analysis of solid samples

## ABSTRACT

Fluorine may be present in soil naturally, in the form of minerals (fluorite, fluorapatite and cryolite) or due to environmental pollution. Plants harvested in soils with high levels of this element might be contaminated and consequently they may present toxicological effects, such as necrosis or growth reduction. Hence, the development of reliable and appropriate methods for the accurate determination of F has become of great importance. The aim of this study was the development of an analytical method for F determination in soil samples, monitoring the rotational lines of the CaF molecule by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using direct analysis of solid samples. All measurements were carried out using the wavelength at 606.440 nm, evaluating the center pixel only, and a standard solution of 7.5 g L<sup>-1</sup> Ca was used as the molecule-forming reagent. The pyrolysis and atomization temperatures were optimized to 900 °C and 2100 °C, respectively; the Ca mass of 75 µg was adequate to guarantee the formation of the CaF molecule in samples and standard solutions. Sample masses up to 0.25 mg were weighted. Fluoride aqueous standard solutions were used for calibration, resulting in a linear working range between 1.5 and 27 ng F. The characteristic mass obtained was 0.13 ng and the limits of detection and quantification were 0.72 and 2.4 ng mg<sup>-1</sup>, respectively, calculated for a sample mass of 0.25 mg. A certified reference material of Lake Sediment (LKSD-4, Ontario, Canada) was used to confirm the trueness of the developed method. The value found for F (234 ± 14 ng mg<sup>-1</sup>) was in agreement with the certified value (260 ± 40 ng mg<sup>-1</sup>), proving that the developed method provides accurate results for F determination in soil samples. Finally, the developed method was applied for the analysis of soil samples from urban and rural areas. Considering all the investigated soil samples, the F content varied between 138 and 232 ng mg<sup>-1</sup>.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Fluorine is the 13th element most abundant in nature, present in about 0.09% of the Earth's crust [1]. It can be found in mineral rocks, especially as fluorite (CaF<sub>2</sub>), fluorapatite (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>F<sub>2</sub>) and cryolite (Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub>) [2]. On the other hand, the main anthropogenic sources of F are the gaseous emissions from aluminum smelters, coal power plants, brick and cement manufacturers, chinaware and glassware factories, and phosphate manufacturing plants [3]. The natural fluorine content in the soil vary between 10 and 500 mg kg<sup>-1</sup>, however, these concentrations can increase significantly if the soil was fertilized through a long period with phosphates, as soil amendment, or if it is situated in the vicinity of aluminum smelters, coal power plants or cement industries [2–5].

In plants, fluorine and fluorides are known to be potentially toxic; their compounds are absorbed through the roots and/or leaves [6,7]. From the soil, these substances are transferred from roots to the respiratory organs (leaves), via xylematic flow, where they are usually accumulated [8–10]. The typical symptoms, attributable to F pollutants, consist in tip and margin necrosis ('tip burn') of the leaves [11,12]. Moreover, the F amount that may cause these injures depends on the plant species, varying from 50 to 2000 mg kg<sup>-1</sup> [13–16].

For humans, high F amounts can cause several health problems: gastric disorders, temporary reduction of urinary capacity, dental or skeletal fluorosis and even death, depending on the dose, time of ingestion and age [17,18]. Fluorine is usually uptake from drinking water and food (plants and animals) [19,20]. Soils presenting high F concentrations can be considered a contamination source for drinking water [2, 21,22]. Thus, analytical methods that can provide fast and reliable results are vital in order to control F contaminations in soils.

Literature reports that F is usually determined using an ion-selective electrode, which provides the measurement of free and complex-bound

\* Corresponding author at: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail address: [mbdessuy@ufrgs.br](mailto:mbdessuy@ufrgs.br) (M.B. Dessuy).

fluoride dissolved in water [22,23]. Others techniques that can be used to perform F determination are ion chromatography and atomic and molecular spectrometry [23]. Most of the cited techniques require a sample pretreatment step. In this context, the use of the high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR-CS GF MAS) can be an effective alternative technique since it allows the direct analyses of solid samples [24–26]. Therefore, it provides F quantification with a minimum pretreatment, avoiding sample dilution or contamination.

It is well known that F can be determined by HR-CS MAS via different diatomic molecules: CaF, GaF, AlF, SrF [27–43]. For example, Borges et al. [37] determined F in plant material via CaF diatomic molecule by HR-CS GF MAS using direct analysis of solid samples. Huang et al. [27] succeeded in quantifying the F content, in a super-phosphate certified reference material (CRM), via the GaF molecule using an air-acetylene flame. Ozbek and Akman [32], in 2012, using the absorption of the AlF molecule, determined F in toothpaste in a nitrous oxide–acetylene flame. Ozbek and Akman [33], in 2012, also investigated the absorption of the SrF molecule without modifier for the determination of F in water samples by HR-CS GF MAS; however a relatively high detection limit was obtained.

In this work, the CaF molecule with a resonant line at 606.440 nm was chosen for F determination in soil samples. One of the CaF advantages is that calcium acts both as the molecule-forming reagent and as a chemical modifier. Another advantage is the minimum risk for spectral interferences at the selected wavelength, as only a few atoms have absorption lines nearby. Therefore, the main objective of the present work was to develop an analytical method and investigate its applicability on the determination of F via the molecular absorption of CaF in different soil samples, using HR-CS GF MAS and direct analysis of solid samples.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

All measurements were performed in a high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer Model contrAA 700 (Analytik Jena AG, Jena, Germany). This equipment contains a xenon short-arc lamp, with a nominal power of 300 W, a compact high-resolution double monochromator, which consists of a prism and an echelle grating and a charge-coupled device (CCD) detector. Considering that the Xe lamp emits continuum spectra between 190 and 900 nm, it was possible to determine F via its diatomic molecule, CaF, at the resonance line of 606.440 nm. The integrated absorbance ( $A_{int}$ ) values were obtained by measuring the peak area of the center pixel (CP) only.

Solid sample (SS) graphite platforms (Analytik Jena, Part no. 407-152.023) and pyrolytically coated transversely heated graphite furnaces without dosing hole (Analytik Jena, Part no. 407-A81.303) were used in all experiments. Argon with a purity of 99.996% (White Martins, São Paulo, Brazil) was used as the purge gas with a flow rate of 2.0 L min<sup>-1</sup> during all stages, except during the vaporization where the gas flow rate was stopped. A MSA6.6S-000-DM microbalance (Sartorius, Göttingen, Germany) was used to weigh the soil samples onto the SS platform and a SSA 5 manual solid sampling accessory (Analytik Jena, Jena, Germany), with a pre-adjusted pair of tweezers, was used to transfer the platform to the atomizer. The optimized graphite furnace temperature program used for fluorine determination in soil samples is shown in Table 1.

### 2.2. Reagents

All analytical solutions were prepared using ultrapure water obtained from a Milli-Q system (Millipore, Bedford, MA, USA). All used containers were soaked in 1.4 mol L<sup>-1</sup> nitric acid for 24 h and washed three times with ultrapure water and placed in a laminar flow hood to

**Table 1**

Temperature program for F determination (via CaF molecule) in soil samples by HR-CS GF MAS using direct analysis of solid samples.

Stage	Temperature/°C	Ramp/°C s <sup>-1</sup>	Hold time/s
Drying 1	90	5	20
Drying 2	140	5	20
Pyrolysis	900	500	30
Vaporization	2100	3000	10
Cleaning	2500	1000	4

dry. Calcium was employed as the molecule-forming reagent and all Ca solutions were prepared using the calcium nitrate salt Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (Vetec, Duque de Caxias, Brazil) in the presence of 0.05% (v/v) Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). The fluorine standard solutions were prepared from the sodium fluoride salt NaF (Merck, Darmstadt, Germany).

### 2.3. Procedure and sample preparation

Soils from urban and countryside areas were investigated. Six soil samples (R1–R6) were obtained from the rural area of Pinto Bandeira (Rio Grande do Sul, Brazil). These samples were randomly collected in different spots in a 10.000 m<sup>2</sup> vineyard field. The urban soil samples (U1–U3) were gathered at Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brazil) urban center. These samples were obtained from three different sites: two samples were picked up next to busy roads and one nearby to a cement industry. After collected, all samples were dried in a dark room, protected from the wind and stored in plastic bags. All soil samples were submitted to a grinding process in an agate mortar and then sieved through a 200 µm polyester sieve and kept in sealed plastic vials until analysis.

Taking into account the analysis procedure, each soil sample was weighed directly onto the SS platform and, before being introduced into the graphite furnace, 10 µL of 7.5 g L<sup>-1</sup> Ca solution in the presence of 0.05% (v/v) Triton X-100 were pipetted over the sample. It was weighed masses between 0.05 mg and 0.25 mg for all investigated samples. Since the sample mass was different for each measurement, the  $A_{int}$  was normalized for an appropriated sample mass for comparison. A certified reference material (CRM), Lake Sediment – LKSD-4 (NRCAN, Ontario, Canada) was evaluated in order to confirm the trueness of the developed method.

## 3. Results and discussions

### 3.1. Molecule-forming reagent and soil sample mass evaluation

To guarantee that all F present in the samples and standard solutions was converted into the CaF diatomic molecule, the Ca amount required was investigated. For this purpose, it was investigated the effect of different Ca masses (15–150 µg), over the CaF  $A_{int}$  values, evaluating a soil sample and a F aqueous standard solution (Fig. 1). To achieve these Ca masses, 10 µL of different standard solution, with Ca concentration between 1.5 and 15 g L<sup>-1</sup>, were pipette over the weighed samples. Fig. 1 shows that for the F standard solution in the absence of Ca, the CaF molecule formation did not occurred ( $A_{int} = 0.00524$ ). Increasing the Ca mass added over the standard solution, the CaF molecule started to be formed and its  $A_{int}$  values reached a plateau for Ca masses higher than 30 µg.

Considering the soil sample (U3), a CaF analytical signal was obtained ( $A_{int} = 0.0314$ ) even without Ca addition, probably due to the presence of this element in the sample. It is also possible to observe that employing 75 µg Ca, the highest CaF  $A_{int}$  values were obtained. For both, standard and sample, the use of higher Ca mass did not increase the CaF  $A_{int}$  values, indicating that all F present in sample and standard was converted into the CaF molecule using 75 µg Ca.



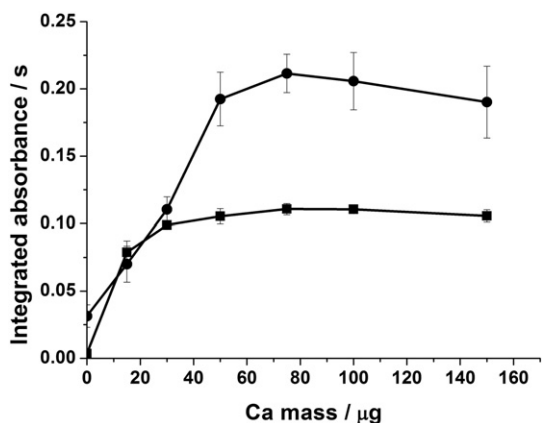


Fig. 1. Influence of the molecule-forming reagent mass on the CaF  $A_{int}$  values evaluating a (■) 3 ng F aqueous standard solution and a (●) soil sample (U3). The  $A_{int}$  values were normalized to a sample mass of 0.05 mg,  $T_{pyr} = 900$  °C and  $T_{vap} = 2100$  °C.

To confirm that 75 µg Ca was enough to convert all F present in the samples into the CaF molecule, different sample masses were investigated. Employing the Ca mass of 75 µg, it was possible to analyze sample masses between 0.03 and 0.25 mg: a good correlation between sample mass and  $A_{int}$  values was obtained ( $A_{int} = 0.0920 + 5.11 m$ ,  $R = 0.9878$ ). Moreover, evaluating ten normalized CaF  $A_{int}$  values, the obtained relative standard deviation (RSD) value was 7.4%, indicating precise results. Therefore, 75 µg Ca was chosen as the optimum molecule-forming reagent mass and it was used in all further experiments.

### 3.2. Pyrolysis and vaporization temperatures optimization

The pyrolysis and vaporization curves were optimized using an aqueous standard solution with 3 ng F, a CRM of lake sediment (LKSD-4) and a soil sample (U3). As can be seen in Fig. 2, the investigated pyrolysis temperature varied from 300 up to 1900 °C. The CaF  $A_{int}$  values remained stable up to 1500 °C for F standard solution, 1300 °C for soil sample and 900 °C for CRM. These differences at the maximum pyrolysis temperatures ( $T_{pyr}$ ), which could be used without losses of CaF, are probably related to the destabilization of the diatomic molecule by the sample matrix. Thus, in order to avoid losses in the CaF analytical signal, the temperature of 900 °C was chosen as the optimum  $T_{pyr}$  and used in all further measurements. It is worth mention that when pyrolysis temperatures below 700 °C were employed, the CaF vaporization started later, probably due to the way as the tube is heated. Thus, to guarantee that the CaF was completely vaporized and its analytical signal integrated, it was necessary to increase the integration/vaporization time from

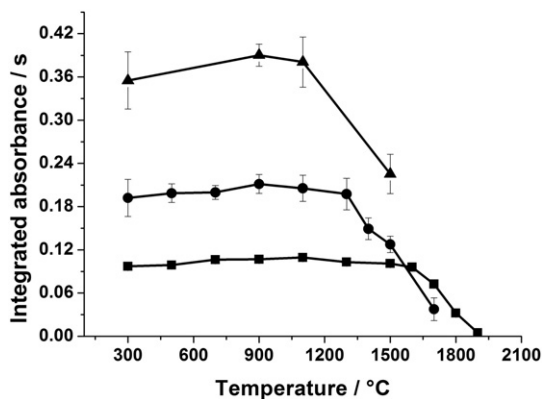


Fig. 2. Pyrolysis curves for: (■) 3 ng F aqueous standard solution, (●) soil sample (U3) and (▲) lake sediment (LKSD-4) CRM. For CRM and sample the  $A_{int}$  values were normalized to a mass of 0.05 mg. Ca mass of 75 µg and  $T_{vap} = 2100$  °C.

10 to 15 s when temperatures below 700 °C were employed. Maybe, this could be the reason why other authors [36,37] obtained pyrolysis curves with different profile, i.e., they observed lower CaF  $A_{int}$  values for pyrolysis temperatures below 700 °C.

The vaporization temperature ( $T_{vap}$ ) optimization was carried out monitoring the CaF  $A_{int}$  values from a soil sample (U3) and a F standard solution, between 1700 and 2600 °C, as showed in Fig. 3. Considering the F standard solution it is possible to observe that there is an increase in the CaF  $A_{int}$  values up to 2000 °C and it reaches a plateau. For the soil sample, the CaF  $A_{int}$  values increased up to 2100 °C, achieving its maximum value. For higher vaporization temperatures it is observed for both, standard ( $T_{vap} > 2200$  °C) and sample ( $T_{vap} > 2100$  °C), that the  $A_{int}$  values decreased due to the CaF molecule dissociation or its diffusion from the furnace [36]. After that, the CRM was evaluated at temperatures between 2000 and 2200 °C. These results are presented at Fig. 3; the higher CaF  $A_{int}$  values were obtained at 2100 °C. Therefore, the optimized  $T_{vap}$  for the CaF molecule employed in all further measurements, chosen on the basis of the highest  $A_{int}$  values and the most symmetric peaks, was 2100 °C.

### 3.3. Figures of merit

The calibration curve was obtained measuring 10 µL of aqueous standard solutions with F concentrations varying from 0.15 to 2.7 mg L<sup>-1</sup> (1.5 to 27 ng). The blank measurements were carried out through direct analysis of 10 µL of the 7.5 g L<sup>-1</sup> Ca solution (molecular-forming reagent). The limit of detection (LOD) was calculated as three times the standard deviation of 10 measurements of blank, divided by the sensitivity (slope of the calibration curve); the limit of quantification (LOQ) as ten times the standard deviation of 10 measurements of blank, divided by the sensitivity. The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of the analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s. The figures of merit are presented in Table 2. The intercept and correlation coefficient values obtained from the linear regression confirms that the Ca amount, employed as molecule-forming reagent, is adequate to ensure the conversion of even high F masses to CaF.

The figures of merit were compared with those obtained by other authors, also using CaF molecule and the same wavelength. Morés et al. [31], in 2011, determined F in tea samples and the LOD and  $m_0$  found by the authors were 1.6 ng (absolute) and 2.5 ng, respectively. Borges et al. [37], in 2014, investigated the F content in plant materials and obtained 0.036 ng (absolute) as LOD and 0.044 ng as  $m_0$ . More recently (2015), Machado et al. [41], determined F in coal and reported the following values as LOD and  $m_0$ : 0.30 and 0.10 ng, respectively. However, these authors used three pixels ( $CP \pm 1$ ) for signal evaluation while in this work only the CP was monitored. It is well known that this

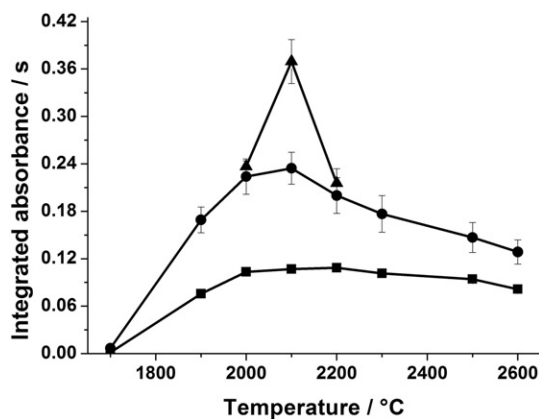


Fig. 3. Vaporization curves for: (■) 3 ng F aqueous standard solution, (●) soil sample (U3) and (▲) lake sediment (LKSD-4) CRM. For CRM and sample the  $A_{int}$  values were normalized to a mass of 0.05 mg. Ca mass of 75 µg and  $T_{pyr} = 900$  °C.

**Table 2**

Figures of merit for the determination of F in soil samples via CaF molecule by HR-CS GF MAS using direct analysis of solid sample. Ca mass of 75  $\mu\text{g}$ ,  $T_{\text{pyr}} = 900$  °C and  $T_{\text{vap}} = 2100$  °C.

Parameter	CaF - 606.440 nm
Linear regression	$A_{\text{int}}(s) = 0.010 + 0.327 m(\text{ng})$
Correlation coefficient (R)	0.999
LOD (ng/ng $\text{mg}^{-1}$ )	0.18/0.72 <sup>a</sup>
LOQ (ng/ng $\text{mg}^{-1}$ )	0.61/2.4 <sup>a</sup>
$m_0$ (ng)	0.13

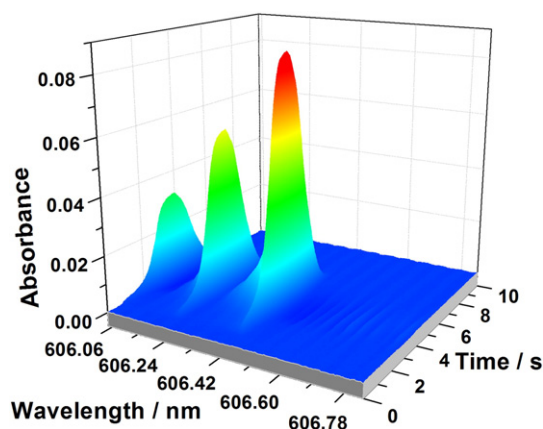
<sup>a</sup> Calculated for a maximum weighed sample mass of 0.25 mg.

fact reduces in, approximately, three times the sensitivity. Thus, it is possible to conclude that the figures of merit showed in Table 2 are lower than those reported by M6res et al. [31] and Machado et al. [41] and very similar to those described by Borges et al. [37]. Moreover, the LOD and LOQ from the proposed method are much lower than the expected F content in soil samples (10–500 ng  $\text{mg}^{-1}$ ) [2–5], therefore this method can be, successfully, employed for F determination in soil samples.

#### 3.4. CRM and soil samples analysis

As mentioned before, the trueness of the proposed method was verified through the analysis a CRM of lake sediment (LKSD-4). The obtained F concentration for the CRM,  $234 \pm 14$  ng  $\text{mg}^{-1}$ , was compared with the certified value ( $260 \pm 40$  ng  $\text{mg}^{-1}$ ) through the Student's *t*-test. As the calculated *t* (1.37) was lower than the critical *t* (2.57), for a confidence level of 95%, it is possible to conclude that the method provides reliable results. The precision of the method was established evaluating 10 replicates of three different samples and it was expressed as the RSD, which presented values below 10%. Fig. 4 shows the time-resolved spectrum at the selected CaF analytical line and its vicinity for a rural soil sample.

Nine soil samples were evaluated and the F concentrations found are shown in Table 3. It is possible to observe that the F content, in the investigated soil samples, is in agreement with the expected natural F concentration for soil samples (10–500 ng  $\text{mg}^{-1}$ ). Taking into account the urban soil samples, the F concentration of the U3 sample is significantly different from the others; however, it does not indicate F contamination. Comparing the rural and urban (except U3) soil results, through a Student's *t*-test, with a confidence level of 95%, they are considered not to be statistically different ( $t_{\text{calc}} = 0.31$ ). In other words, the soil samples collected near busy roads or even in the vicinity of a cement factory did not presented high F amounts in comparison to those gathered in a rural area, showing few evidence of F contamination.



**Fig. 4.** Time-resolved absorbance spectrum in the vicinity of the CaF diatomic molecule for R2 soil sample ( $m = 0.046$  mg,  $A_{\text{int}} = 0.2105$ ), using the CP at 606.440 nm analytical line. Ca mass of 75  $\mu\text{g}$ ,  $T_{\text{pyr}} = 900$  °C and  $T_{\text{vap}} = 2100$  °C.

**Table 3**

Determination of fluorine in soil samples by HR-CS GF MAS using direct analysis of solid sample. Ca mass of 75  $\mu\text{g}$ ,  $T_{\text{pyr}} = 900$  °C and  $T_{\text{vap}} = 2100$  °C. ( $n = 5$ ; mean  $\pm$  sd).

Rural soil samples	F ng $\text{mg}^{-1}$	Urban soil samples	F ng $\text{mg}^{-1}$
R1	144 $\pm$ 12	U1	138 $\pm$ 15
R2	174 $\pm$ 17	U2	152 $\pm$ 13
R3	185 $\pm$ 22	U3	232 $\pm$ 18
R4	163 $\pm$ 14		
R5	151 $\pm$ 14		
R6	176 $\pm$ 10		

#### 4. Conclusions

The presented results pointed out that the determination of F, via CaF diatomic molecule, in soil samples using HR-CS GF MAS and direct analysis of solid samples is feasible. The developed method is very simple and accurate, since it requires a minimum sample pretreatment and uses aqueous standard solution for calibration. Moreover, it is not necessary to use chemical modifier as Ca acts as molecule-forming reagent and chemical modifier. Furthermore, a linear working range from 0.61–27 ng F was obtained which means that soil samples with a wide F concentration range can be analyzed.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for their financial support. This work was supported by CNPq, grant no. 474699/2013-7. M.G.R.V. has scholarship from CNPq (grant no. 305679/2015-5) and W.B. from CAPES (grant no. CAPES 1533/2013).

#### References

- [1] R. Szostek, Z. Cieřko, Content of fluorine in biomass of crops depending on soil contamination by this element, *Fluoride* 47 (2014) 294–306.
- [2] S. Blagojević, M. Jakovljević, M. Radulović, Content of fluorine in soils in the vicinity of aluminium plant in Podgorica, *J. Agric. Sci.* 47 (2002) 1–8.
- [3] S. Zhu, J. Zhang, T. Dong, Removal of fluoride from contaminated field soil by anolyte enhanced electrokinetic remediation, *Environ. Earth Sci.* 59 (2009) 379–384.
- [4] P. Loganathan, M.J. Hedley, N.D. Grace, J. Lee, S.J. Cronin, N.S. Bolan, J.M. Zanders, Fertiliser contaminants in New Zealand grazed pasture with special reference to cadmium and fluorine: a review, *Aust. J. Soil Res.* 41 (2003) 501–532.
- [5] K.S. Patel, D. Sahu, N.S. Dahariya, B.L. Sahu, S. Ramteke, B. Blazhev, L. Matini, E. Yubero, J. Hoinkis, Contamination of water, dust, soil, rock and urine with fluoride in central India, *J. Environ. Prot.* 6 (2015) 1347–1359.
- [6] S. Supharungsun, M. Wainwright, Determination, distribution and absorption of fluoride in atmospheric-polluted soils, *Bull. Environ. Toxicol.* 28 (1982) 632–636.
- [7] A. Klumpp, M. Domingos, R.M. De Moraes, G. Klumpp, Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil, *Chemosphere* 36 (1998) 989–994.
- [8] A. Klumpp, M. Domingos, M.L. Pignata, Air pollution and vegetation damage in South America-state of knowledge and perspectives, in: S.B. Agrawal, M. Agrawal (Eds.), *Environmental Pollution and Plant Responses*, CRC Press, New York 2000, pp. 111–136.
- [9] G. Davieson, F. Murray, S. Wilson, Effects of sulphur dioxide and hydrogen fluorides by singly and in combination on growth and yield of wheat in open-top chambers, *Agri. Ecosyst. Environ.* 30 (1990) 317–325.
- [10] A. Klumpp, G. Klumpp, M. Domingos, M.D. Silva, Fluoride impact on native tree species of the Atlantic Forest near Cubatão, Brazil, *Air Soil Pollut.* 87 (1996) 57–71.
- [11] L.H. Weinstein, R. Halscher-Herman, Physiological responses of plants to fluorine, in: M.H. Unsworth, D.P. Ormrod (Eds.), *Effects of Gaseous Air Pollutants in Agriculture and Horticulture*, Butterworths, London 1982, pp. 139–167.
- [12] R.B. Fornasiero, Phytotoxic effects of fluorides, *Plant Sci.* 161 (2001) 979–985.
- [13] D.R. Leece, J.H. Scheltema, T. Anttonen, R.G. Weir, Fluoride accumulation and toxicity in grapevines *Vitis vinifera* L. in New South Wales, *Environ. Pollut. Ser. A* 40 (1986) 145–172.
- [14] D. Doley, Experimental analysis of fluoride susceptibility of grapevine (*Vitis vinifera* L.): leaf development during four successive seasons of fumigation, *New Phytol.* 103 (1986) 325–340.
- [15] O.C. Maloy, T.D. Murray, *Encyclopedia of Plant Pathology*, John Wiley & Sons Inc., New York, 2000.
- [16] L.H. Weinstein, A.W. Davison, *Fluorides in the Environment: Effects on Plants and Animals*, CABI Publishing, Wallingford, 2004.
- [17] P.T.C. Harrison, Fluoride in water: a UK perspective, *J. Fluor. Chem.* 126 (2005) 1448–1456.

- [18] M.J. McLaughlin, D.P. Stevens, D.G. Keerthisinghe, J.W.D. Cayley, A.M. Ridley, Contamination of soil with fluoride by long-term application of superphosphates to pastures and risk to grazing animals, *Aust. J. Soil Res.* 39 (2001) 627–640.
- [19] C.A. Tylenda, D. Jones, L. Ingerman, G. Sage, L. Chappell, Fluorides, Hydrogen Fluoride, and Fluorine, U.S. Department of Health and Human Services, 2003.
- [20] R. Ranjan, A. Ranjan, Fluoride Toxicity in Animals, *SpringerBriefs in Animal Sciences*, London, 2015.
- [21] O. Selinus, B. Alloway, J.A. Centeno, R.B. Finkelman, R. Fuge, U. Lindh, P. Smedley, *Essentials of Medical Geology*, Revised Edition, Springer, 2013.
- [22] World Health Organization (Ed.), Fluoride in Drinking-water, Guidelines for Drinking-water Quality, 2004.
- [23] A.D. Campbell, Determination of fluoride in various matrices, *IUPAC* 59 (1987) 695–702.
- [24] U. Kurfürst, *Solid Sample Analysis - Direct and Slurry Sampling Using GFAAS and ETV-ICP*, Springer-Verlag, Berlin, 1998.
- [25] M.G.R. Vale, N. Oleszczuk, W.N.L. dos Santos, Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry - a critical review of the development between 1995 and 2005, *Appl. Spectrosc. Rev.* 41 (2006) 377–400.
- [26] M. Resano, M.R. Flórez, E. García-Ruiz, High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities, *Spectrochim. Acta, Part B* 88 (2013) 85–97.
- [27] M.D. Huang, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, M. Okrus, Determination of halogens via molecules in the air-acetylene flame using high-resolution continuum source absorption spectrometry: part I. Fluorine, *Spectrochim. Acta, Part B* 61 (2006) 572–578.
- [28] U. Heitmann, H. Becker-Ross, S. Florek, M.D. Huang, M. Okrus, Determination of non-metals via molecular absorption using high-resolution continuum source absorption spectrometry and graphite furnace atomization, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 1314–1320.
- [29] H. Gleisner, B. Welz, J.W. Einax, Optimization of fluorine determination via the molecular absorption of gallium mono-fluoride in a graphite furnace using a high-resolution continuum source spectrometer, *Spectrochim. Acta Part B* 65 (2010) 864–869.
- [30] H. Gleisner, J.W. Einax, S. Morés, B. Welz, E. Carasek, A fast and accurate method for the determination of total and soluble fluorine in toothpaste using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry and its comparison with established techniques, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 54 (2011) 1040–1046.
- [31] S. Morés, G.C. Monteiro, F.S. Santos, E. Carasek, B. Welz, Determination of fluorine in tea using high-resolution molecular absorption spectrometry with electrothermal vaporization of the calcium mono-fluoride CaF, *Talanta* 85 (2011) 2681–2685.
- [32] N. Ozbek, S. Akman, Method development for the determination of fluorine in toothpaste via molecular absorption of aluminum mono fluoride using a high-resolution continuum source nitrous oxide/acetylene flame atomic absorption spectrophotometer, *Talanta* 94 (2012) 246–250.
- [33] N. Ozbek, S. Akman, Method development for the determination of fluorine in water samples via the molecular absorption of strontium monofluoride formed in an electrothermal atomizer, *Spectrochim. Acta Part B* 69 (2012) 32–37.
- [34] M. Krüger, M.D. Huang, H. Becker-Ross, S. Florek, I. Ott, R. Gust, Quantification of the fluorine containing drug 5-fluorouracil in cancer cells by GaF molecular absorption via high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 69 (2012) 50–55.
- [35] N. Ozbek, S. Akman, Molecule formation mechanisms of strontium mono fluoride in high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal. Sci.* 29 (2013) 741–746.
- [36] N. Ozbek, S. Akman, Determination of fluorine in milk samples via calcium-monofluoride by electrothermal molecular absorption spectrometry, *Food Chem.* 138 (2013) 650–654.
- [37] A.R. Borges, L.L. François, B. Welz, E. Carasek, M.G.R. Vale, Determination of fluorine in plant materials via calcium mono-fluoride using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry with direct solid sample introduction, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 1564.
- [38] J. Acker, S. Bücken, V. Hoffmann, The formation of AlF molecules and Al atoms in a C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O flame studied by absorption and emission spectrometry of molecules and atoms, *Curr. Anal. Chem.* 10 (2014) 418–425.
- [39] M.D. Huang, H. Becker-Ross, M. Okrus, S. Geisler, S. Florek, S. Richter, A. Meckelburg, Direct determination of fluorine in niobium oxide using slurry sampling electrothermal high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 94–95 (2014) 34–38.
- [40] S. Bücken, V. Hoffmann, J. Acker, Determination of fluorine by molecular absorption spectrometry of AlF using a high-resolution continuum source spectrometer and a C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O flame, *Curr. Anal. Chem.* 10 (2014) 426–434.
- [41] P.M. Machado, S. Morés, É.R. Pereira, B. Welz, E. Carasek, J.B. de Andrade, Fluorine determination in coal using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Spectrochim. Acta Part B* 105 (2015) 18–24.
- [42] A.R. Borges, Á.T. Duarte, M. da L. Potes, M.M. Silva, M.G.R. Vale, B. Welz, Fluorine in eye shadow: development of method using high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry via calcium mono-fluoride with direct solid sample introduction, *Microchem. J.* 124 (2016) 410–415.
- [43] N. Ozbek, S. Akman, Optimization and application of a slurry sampling method for the determination of total fluorine in flour using a high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometer, *Food Anal. Methods* 9 (2016) 2925–2932.

## 4. CONCLUSÕES

As potencialidades da HR-CS AAS e MAS foram exploradas com sucesso neste trabalho:

- o uso da HR-CS GF AAS possibilitou a determinação de Mo e Ni, simultaneamente, em amostras de fertilizante e vinho, utilizando a análise direta de amostras sólidas (fertilizantes) e líquidas (vinhos). O uso do modificador químico  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  garantiu a completa eliminação de interferências espectrais tanto nas amostras de fertilizante como nas amostras de vinho. Contudo, durante a avaliação de diferentes CRM, foi observada uma interferência espectral do Fe sobre a linha analítica do Ni (313,410 nm). Esta interferência foi corrigida avaliando o sinal analítico do Fe em outro comprimento de onda (duplete 312,565/312,568 nm), sendo possível, assim, subtrair o sinal do Fe na linha de 313,410 nm (Ni+Fe). É importante ressaltar que este tipo de interferência espectral (sobreposição de linhas) só pôde ser observado através da análise de CRM, ou seja, se algum procedimento de preparo de amostra fosse empregando esta contribuição do Fe sobre o Ni não seria observada. O vinho, por apresentar baixa concentração de Fe ( $< 50 \text{ mg L}^{-1}$ ) não apresentou interferência de Fe sobre o sinal do Ni.

- foi desenvolvido um método analítico para determinar Si em plantas *via* HR-CS GF AAS utilizando a análise direta de amostras sólidas. Devido à alta concentração de Si nas amostras foi necessário utilizar uma linha analítica alternativa, com 5,9% de sensibilidade relativa, e ainda o emprego de fluxo mínimo de gás ( $0,1 \text{ L min}^{-1}$ ) na etapa de atomização. Foram utilizados também, modificadores químicos Rh (permanente) e Pd/Mg (em solução) para auxiliar na estabilização térmica do Si. Os resultados das análises mostraram que altos teores de Si podem ser encontrados nas plantas, dependendo da espécie, como o caso da palha de cana-de-açúcar, que apresentou concentração de Si de 2% (m/m).

- foi realizada a determinação sequencial e simultânea de Cd, Cr, Fe e Al em amostras de solo *via* HR-CS GF AAS e MAS, utilizando a análise direta de amostras sólidas. O Al foi determinado através da avaliação da molécula diatômica de AlH e não foi necessário adicionar reagente formador para obtenção desta molécula. Foi observado que a presença de Al no padrão aquoso interferiu no sinal analítico do Cd, sendo esta interferência corrigida com o uso de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . O mesmo não foi observado nas amostras de solo, provavelmente, devido a efeitos de matriz. As amostras de solo investigadas

apresentaram concentração de Cd e Cr dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira. Já as concentrações de Fe e Al foram concordantes com os teores naturais esperados para estes analitos no solo.

- a técnica de HR-CS GF MAS foi empregada na determinação de F em solos, utilizando a análise direta de amostras sólidas. Para tal, a molécula diatômica de CaF foi utilizada, sendo o Ca considerado tanto reagente formador da molécula como modificador químico. O método se mostrou muito simples, requerendo apenas uma etapa de moagem e peneiração como preparo de amostra. As análises das amostras investigadas mostraram que o teor de F encontrado está concordante com o esperado para solos não contaminados.

A alta resolução da técnica, aliada ao uso do forno de grafite permitiu, portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos simples, rápidos e confiáveis, envolvendo um mínimo preparo das amostras e o emprego de soluções padrão aquosas para calibração.

## 5. REFERÊNCIAS

1. Welz, B.; Sperling, M.; *Atomic Absorption Spectrometry*, 3<sup>rd</sup> ed. Wiley-VCH: Weinheim, 1999.
2. Kirchhoff, G.; Bunsen, R.; *Ann. Phys.-Berlin* **1860**, *110*, 161-189.
3. Koirtiyohann, S.R.; *Spectrochim. Acta Part B* **1980**, *35*, 663-670.
4. Walsh, A.; *Spectrochim. Acta Part B* **1955**, *7*, 108-117.
5. Welz, B.; Vale, M.G.R.; Pereira, É.R.; Castilho, I.N.B.; Dessuy, M.B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, *25*, 799-821.
6. Iams, H.; Salzberg, B.; *Proc. IRE.* **1935**, *23*, 55-64.
7. L'vov, B.V.; *Spectrochim. Acta Part B* **1961**, *17*, 761-770.
8. Slavin, W.; Manning, D.C.; Carnrick, G.R.; *At. Spectrosc.* **1981**, *2*, 137-145.
9. Keliher, P.N.; Wohlers, C.C.; *Anal. Chem.* **1974**, *46*, 682-687.
10. Zander, A.T.; O'Haver, T.C.; Keliher, P.N.; *Anal. Chem.* **1976**, *48*, 1166-1175.
11. Jones, B.T.; Smith, B.W.; Winefordner, J.D.; *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1670-1674.
12. Fernando, R.; Calloway Jr., C.P.; Jones, B.T.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1556-1560.
13. Fernando, R.; Jones, B.T.; *Spectrochim. Acta Part B* **1994**, *49*, 615-626.
14. Smith, C.M.M.; Harnly, J.M.; *Spectrochim. Acta Part B* **1994**, *49*, 387-398.
15. Harnly, J.M.; *Anal. Bioanal. Chem.* **1996**, *355*, 501-509.
16. True, J.B.; Williams, R.H.; Denton, M.B.; *Appl. Spectrosc.* **1999**, *53*, 1102-1110.
17. L'vov, B.V.; *Spectrochim. Acta B* **1999**, *54*, 1637-1646.
18. Harnly, J. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, *14*, 137-146.
19. Schuetz, M.; Murphy, J.; Fields, R.E.; Harnly, J.M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2000**, *55*, 1895-1912.
20. Rust, J.A.; Nóbrega, J.A.; Calloway Jr., C.P.; Jones, B.T.; *Anal. Sci.* **2005**, *21*, 1009-1013.
21. Rust, J.A.; Nóbrega, J.A.; Calloway Jr., C.P.; Jones, B.T.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, *60*, 589-598.
22. Geisler, S.; Okruss, M.; Becker-Ross, H.; Huang, M.D.; Esser, N.; Florek, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2015**, *107*, 11-16.
23. Katskov, D.; *Spectrochim. Acta Part B* **2015**, *105*, 25-37.
24. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; *High-Resolution Continuum Source AAS*, Wiley-VCH: Weinheim, 2005.

25. Harnly, J.M.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 933A-943A.
26. Harnly, J.M.; O'Haver, T.C.; Golden, B.; Wolf, W.R.; *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 2007-2014.
27. Miller-Ihli, N.J.; O'Haver, T.C.; Harnly, J.M.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 176-181.
28. Lewis, S.A.; O'Haver, T.C.; Harnly, J.M.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1066-1070.
29. Harnly, J.M.; Miller-Ihli, N.J.; O'Haver, T.C.; *Spectrochim. Acta Part B* **1984**, *39*, 305-320.
30. Lundberg, E.; Frech, W.; Harnly, J.M.; *Anal. At. Spectrom.* **1988**, *3*, 1115-1119.
31. Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Weisse, R.; *Anal. Bioanal. Chem.* **1996**, *355*, 300-303.
32. Schmidt, K.P.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **1990**, *45*, 1203-1210.
33. Becker-Ross, H.; Florek, S.; Tischendorf, R.; Schmecher, G.R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1995**, *10*, 61-64.
34. Florek, S.; Becker-Ross, H.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1995**, *10*, 145-147.
35. Florek, S.; Becker-Ross, H.; Florek, T.; *Anal. Bioanal. Chem.* **1996**, *355*, 269-271.
36. Becker-Ross, H.; Florek, S.V.; *Spectrochim. Acta Part B* **1997**, *52*, 1367-1375.
37. Heitmann, U.; Schütz, M.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **1996**, *51*, 1095-1105.
38. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Vale, M.G.R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 220-229.
39. Borges, D.L.G.; Curtius, A.J.; Welz, B.; Heitmann, U.; *Analytica* **2005**, *18*, 58-67.
40. Welz, B.; Borges, D.L.G.; Lepri, F.G.; Vale, M.G.R.; Heitmann, U.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 873-883.
41. Welz, B.; Vale, M.G.R.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 2085-2095.
42. Welz, B.; Morés, S.; Carasek, E.; Vale, M.G.R.; Okruss, M.; Becker-Ross, H.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2010**, *45*, 327-354.
43. Resano, M.; García-Ruiz, E.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *399*, 323-330.
44. Resano, M.; Flórez, M.R.; García-Ruiz, E.; *Spectrochim. Acta Part B* **2013**, *88*, 85-97.
45. Resano, M.; Aramendía, M.; Belarra, M.A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 2229-2250.

46. Resano, M.; Flórez, M.R.; García-Ruiz, E.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406*, 2239-2259.
47. Bédard, L.P.; *Geostand. Geoanal. Res.* **2006**, *30*, 183-186.
48. Vale, M.G.R.; Oleszczuk, N.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2006**, *41*, 377-400.
49. Resano, M.; Vanhaecke, F.; Loos-Vollebregt, M.T.C. de; *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 1450-1475.
50. Taylor, A.; Branch, S.; Day, M.P.; Patriarca, M.; White, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2011**, *26*, 653-692.
51. Resano, M.; Bolea-Fernández, E.; Mozas, E.; Flórez, M.R.; Grinberg, P.; Sturgeon, R.E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 657-665.
52. Haraguchi, H.; Fuwa, K.; *Anal. Chem.* **1976**, *48*, 784-786.
53. Dittrich, K.; *Anal. Chim Acta* **1978**, *97*, 59-68.
54. B. Welz, F.G. Lepri, R.G.O. Araujo, S.L.C. Ferreira, M.-D. Huang, M. Okruss, H. Becker-Ross, *Anal. Chim. Acta* **2009**, *647*, 137-148.
55. Butcher, D.J.; *Anal. Chim. Acta* **2013**, *804*, 1-15.
56. Struve, W.S.; *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*; John Wiley & Sons, New York, 1989.
57. CRC, *Handbook of Chemistry and Physics*, 91a ed., CRC Press: Boca Raton, 2010.
58. Becker-Ross, H.; Florek, S. Heitmann, U.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, *15*, 137-141.
59. Welz, B.; Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; Becker-Ross, H.; Huang, M.D; Florek, S.; Heitmann, U.; *Spectrochim Acta Part B* **2002**, *57*, 1043-1055.
60. Vale, M.G.R. M.G.R.; Damin, I.C.F.; Klassen, A.; Silva, M.M.; Welz, B.; Silva, A.F.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U.; *Microchem. J.* **2004**, *77*, 131-140.
61. Silva, A.F.; Lepri, F.G.; Borges, D.L.G.; Welz, B.; Curtius, A.J.; Heitmann, U.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 1835-1841.
62. Ribeiro, A.S.; Vieira, M.A.; Silva, A.F. da; Borges, D.L.G.; Welz, B.; Heitmann, U.; Curtius, A.J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, *60*, 693-698.
63. Borges, D.L.G.; Silva, A.F. da; Welz, B.; Curtius, A.J.; Heitmann, U.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, *21*, 763-769.
64. Bohrer, D.; Heitmann, U.; Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Welz, B.; Bertagnolli, D.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 1012-1018.
65. Dessuy, M.B. M.B.; Vale, M.G.R.; Lepri, F.G.; Welz, B.; Heitmann, U.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 429-434.
66. Amorim Filho, V.R.; Gomes Neto, J.A.; *Anal. Lett.* **2008**, *41*, 1555-1570.



67. Raposo Jr., J.L.; Oliveira, S.R.; Nóbrega, J.A.; Gomes Neto, J.A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2008**, *63*, 992-995.
68. Oliveira, S.R. de; Raposo Jr., J.L.; Gomes Neto, J.A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2009**, *64*, 593-596.
69. Resano, M.; Briceño, J.; Belarra, M.A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 1343-1354.
70. Araujo, R.G.O.; Welz, B.; Vignola, F.; Becker-Ross, H.; *Talanta* **2009**, *80*, 846-852.
71. Santos, L.M.G.; Araujo, R.G.O.; Welz, B.; Jacob, S.C.; Vale, M.G.R.; Becker-Ross, H.; *Talanta* **2009**, *78*, 577-583.
72. Dittert, I. M.; Silva, J. S.A.; Araujo, R.G.O.; Curtius, A.J.; Welz, B.; Becker-Ross, H.; *Spectrochim Acta Part B* **2009**, *64*, 537-543.
73. Vignola, F.; Borges, D.L.G.; Curtius, A.J.; Welz, B.; Becker-Ross, H.; *Microchem J.* **2010**, *95*, 333-336.
74. Dittert, I. M.; Silva, J.S.A.; Araujo, R.G.O. ; Curtius, A.J.; Welz, B.; Becker-Ross, H.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 590-595.
75. Quadros, D.P.C.; Chaves, E. S.; Lepri, F.G.; Borges, D.L.G.; Welz, B.; Becker-Ross, H.; Curtius, A.J.; *Energy Fuels* **2010**, *24*, 5907-5911.
76. Gómez-Nieto, B.; Gismera, M.J.; Sevilla, M.T.; Procopio, J.R.; *Talanta* **2013**, *116*, 860-865.
77. Resano, M.; Bolea-Fernandez, E.; Mozas, E.; Florez, M.R.; Grinberg, P.; Sturgeon, R.E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 657.
78. Rello, L.; Lapeña, A.C.; Aramendía, M.; Belarra, M.A.; Resano, M.; *Spectrochim Acta Part B* **2013**, *81*, 11-19.
79. Duarte, A.T.; Dessuy, M.B.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Andrade, J.B.; *Talanta* **2013**, *115*, 55-60.
80. Krawczyk, M.; Jeszka-Skowron, M.; Matusiewicz, H.; *Microchem J.* **2014**, *117*, 138-143.
81. Zmozinski, A.V.; Pretto, T.; Borges, A. R.; Vale, M.G.R.; *Anal. Methods* **2015**, *7*, 37-35.
82. Almeida, J.S.; Brandão, G.C.; Dos Santos, G.L.; Teixeira, L.S.G.; *Anal. Methods* **2016**, *8*, 3249-3254.
83. Adolfo, F.R.; Do Nascimento, P.C.; Bohrer, D.; De Carvalho, L.M.; Viana, C.; Guarda, A.; Nunes Colim, A.; Mattiazzi, P.; *Talanta* **2016**, *147*, 241-245.

84. De Babos, D.V.; Bechlin, M.A.; Barros, A.I.; Ferreira, E.C.; Gomes Neto, J.A.; De Oliveira, S.R.; *Talanta* **2016**, *152*, 457-462.
85. Leao, D.J.; Junior, M.M.S.; Brandao, G.C.; Ferreira, S.L.C.; *Talanta* **2016**, *153*, 45-50.
86. Santos, L.O.D.; Brandao, G.C.; Santos, A.M.P.D.; Ferreira, S.L.C.; Lemos, V.A.; *Food Anal. Methods* (in press) **2016**, 1-8.
87. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 1877-1881.
88. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, *61*, 181-188
89. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, *61*, 572-578.
90. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, *61*, 959-964.
91. Heitmann, U.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Huang, M.D.; Okruss, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, *21*, 1314-1320.
92. Huang M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann U.; Okruss, M.; Patz, C.D.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *390*, 361-367.
93. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2008**, *63*, 566-570.
94. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Okruss, M.; Welz, B.; Morés, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2009**, *64*, 697-701.
95. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; Welz, B.; Ferreira, H.S.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 163-168.
96. Ferreira, H.S.; Lepri, F.G.; Welz, B.; Carasek E.; Huang, M.D.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1039-1045.
97. Gleisner, H.; Welz, B.; Einax, J.W.; *Spectrochim. Acta Part B* **2010**, *65*, 864-869.
98. Ferreira, R.B.; Oliveira, S.R.; Franzini, V.P.; Virgilio, A.; Raposo, J.L.; Gomes Neto, J.A.; *At. Spectrosc.* **2011**, *32*, 56-61.
99. Virgilio, A.; Raposo Jr., J.L.; Cardoso, A.A.; Nóbrega, J.A.; Gomes Neto, J.A.; *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2197-2201.
100. Kowalewska, Z.; *Spectrochim. Acta Part B* **2011**, *66*, 546-556.
101. Baysal, A.; Akman, S.; *Talanta* **2011**, *85*, 2662-2665.

102. Gleisner, H.; Einax, J.W.; Morés, S.; Welz, B.; Carasek, E.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, *54*, 1040-1046.
103. Morés, S.; Monteiro, G.C.; Santos, F.da S.; Carasek, E.; Welz, B.; *Talanta* **2011**, *85*, 2681-2685.
104. Aramendía, M.; Flórez, M.R.; Piette, M. F.; Vanhaecke, M.; Resano, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2011**, *26* 1964-1973.
105. Ozbek, N.; Akman, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2012**, *69*, 32-37.
106. Ozbek, N.; Akman, S.; *Anal. Sci.* **2013**, *29*, 741-746.
107. Fechetia, M.; Tognon, A.L.; da Veiga, M.A.M.S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2012**, *71-72*, 98-101.
108. Baumbach, G.; Limburg, T.; Einax, J.W.; *Microchem. J.* **2013**, *106*, 295-299.
109. Mior, R.; Morés, S.; Welz, B.; Carasek, E.; de Andrade, J.B.; *Talanta* **2013**, *106*, 368-374.
110. Ozbek, N.; Akman, S.; *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 4816-4821.
111. Nakadi, F.V.; Rosa, L.R.; da Veiga, M.A.M.S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2013**, *88*, 80-84.
112. Limburg, T.; Einax, J.W.; *Microchem. J.* **2013**, *107*, 31-36.
113. Flórez, M.R.; Resano, M.; *Spectrochim. Acta Part B* **2013**, *88*, 32-39.
114. Ozbek, N.; Akman, S.; *Food Chem.* **2013**, *138*, 650-654.
115. Borges, A.R.; François, L.L.; Welz, B.; Carasek, E.; Vale, M.G.R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 1564-1569.
116. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Okruss, M.; Geisler, S.; Florek, S.; Richter, S.; Meckelburg, A.; *Spectrochim Acta Part B* **2014**, *94-95*, 34-38.
117. Acker, J.; Bücker, S.; Hoffmann, V.; *Curr. Anal. Chem.* **2014**, *10*, 418-425.
118. Würtenberger, I.; Gust, R.; *Anal. Bioanal Chem.* **2014**, *406*, 3431-3442.
119. Ozbek, N.; Akman, S.; *Microchem. J.* **2014**, *117*, 111-115.
120. Gunduz, S.; Akman, S.; *Microchem. J.* **2014**, *116*, 1-6.
121. Pereira, É.R.; Castilho, I.N.B.; Welz, B.; Gois, J.S.; Borges, D.L.G.; Carasek, E.; de Andrade, J.B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2014**, *96*, 33-39.
122. Pereira, E.R.; Welz, B.; Lopez, A.H.D.; de Gois, J.S.; Caramori, G.F.; Borges, D.L.G.; Carasek, E.; de Andrade, J.B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2014**, *102*, 1-6.
123. Brandao, G.C.; Matos, G.D.; Pereira, R.N.; Ferreira, S.L.C.; *Anal. Chim. Acta.* **2014**, *806*, 101-106.

124. Bechlin, M.A.; Fortunato, F.M.; da Silva, M.; Ferreira, E.C.; Gomes Neto, J.A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2014**, *101*, 240-244.
125. Nakadi, F.V.; Soares, A.L.C.; da Veiga, M.A.M.S.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 1871-1879.
126. Gunduz, S.; Akman, S.; *LWT-Food Sci. Technol.* **2014**, *59*, 718-723.
127. Zambrzycka, E.; Godlewska-Żyłkiewicz, B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2014**, *101*, 234-239.
128. Baumbach, G.; Einax, J.W.; *Microchem. J.* **2014**, *117*, 89-93.
129. Ozbek, N.; Baysal, A.; *Food Chem*, **2015**, *168*, 460-463.
130. Gunduz, S.; Akman, S.; *Food Chem*, **2015**, *172*, 213-218.
131. Huber, C.S.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Andrade, J.B.; Dessuy, M.B.; *Spectrochim Acta Part B* **2015**, *108*, 68-74.
132. Ozbek, N.; Akman, S.; *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *61*, 112-116.
133. Machado, P.M.; Morés, S.; Pereira, É.R.; Welz, B.; Carasek, E.; de Andrade, J.B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2015**, *105*, 18-24.
134. Pereira, É.R.; Rocha, L.M.; Cadorim, H.R.; Silva, V.D.; Welz, B.; Carasek, E.; De Andrade, J.B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2015**, *114*, 46-50.
135. Ozbek, N.; Akman, S.; *Spectrom Food Chem*, **2016**, *213*, 529-533.
136. Andrade-Carpente, E.; Peña-Vázquez, E.; Bermejo-Barrera, P.; *Spectrochim Acta Part B* **2016**, *122*, 188-191.
137. Ozbek, N.; Baysal, A.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2016**, *96*, 505-514.
138. Cadorim, H.R.; Pereira, É.R.; Carasek, E.; Welz, B.; De Andrade, J.B.; *Talanta* **2016**, *146*, 203-208.
139. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Okruss, M.; Geisler, S.; Florek, S.; *Spectrochim. Acta Part B* **2016**, *115*, 23-30.
140. Yong, W.; Li, Z.; Tao, Y.; Zong-you, S.; *Metall. Anal.* **2016**, *36*, 1-5.
141. Borges, A.R.; Duarte, T.T.; Potes, M.D.L.; Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; *Microchem. J.* **2016**, *124*, 410-415.
142. Ozbek, N.; Akman, S.; *Food Anal. Methods* (in press) **2016**, 1-8.
143. Ozbek, N.; Akman, S.; *Food Chem.* **2016**, *211*, 180-184.
144. Ozbek, N.; Akman, S.; *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 5767-5772.
145. Fageria, N.K.; *Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas*; Brasília: EMBRAPA, 1989, 425 p.

146. Curi, N.; Larach, J.O.I.; Kämpf, N.; Moniz, A.C.; Fontes, L.E.F.; *Vocabulário de ciência do solo*; Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1993, 90 p.
147. Fageria, N.K.; Baligar, V.C.; Jones, C.A.; *Growth and mineral nutrition of field crops*; New York: Marcel Dekker 2<sup>nd</sup> ed., 1997, 624 p.
148. Soil Science Society of America; *A glossary of soil science terms*; Madison: 1997, 34 p.
149. Parr, J.F.; Papendick, R.I.; Hornick, S.B.; Meyer, R.E.; *Amer. J. Alter. Agric.* **1992**, 7, 5-11.
150. Karlen, D.L.; Andrews, S.S.; Wienhold, B.J.; *Managing soil quality: challenges in modern agriculture*; Wallingford: CABI International, 2004, 17-33.
151. Karlen, D.L.; Andrews, S.S.; Wienhold, B.J.; Doran, J.W.; Soil quality: Humankind's foundation for survival. *Journal of Soil and Water Conservation*, 58, **2003**, 171-179.
152. Karlen, D.L.; Hurley, E.G.; Andrews, S.S.; Cambardella, C.A.; Meek, D.W.; Duffy, M.D.; Mallarino, A.P.; *Agron. J.* **2006**, 98, 484-495.
153. Malavolta, E.; *Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos*. São Paulo: Produquímica, 1994.
154. Nziguheba, G.; Smolders, E.; *Sci.Total Environ.* **2008**, 390, 53-57.
155. Cheney, M.A.; Swinehart, J.H.; *J. Am. Water Resour. Ass.* **1998**, 34, 1051-1060.
156. Alloway, B.J.; *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*, 3<sup>rd</sup> ed., Springer: London, 2013.
157. Tóth, G.; Hermann, T.; Da Silva, M.R.; Montanarella, L.; *Environ. Inter.* **2016**, 88, 299-309.
158. CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução nº 420/2009.
159. Ecological soil screening level for chromium. *United States Environmental Protection Agency (EPA)*, Directive 9285.7- 66, 2008.
160. Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), *Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health*. 2007.
161. Ecological soil screening level for iron, *United States Environmental Protection Agency (EPA)*, Directive 9285.7-69, 2003.
162. Ecological soil screening level for aluminum, *United States Environmental Protection Agency (EPA)*, Directive 9285.7-60, 2003.
163. Poschenrieder, C.; Gunsé, B.; Corrales, I.; Barceló, J.; *Sci. Total Environ.* **2008**, 400, 356-368.

164. Lee, C.R.; *Agron. J.* **1971**, *63*, 604-608.
165. Abadía, J.; Vázquez, S. S.; Rellán-Álvarez, R.; El-Jendoubi, H.; Abadía, A.; Fernández, A.; López-Millán, A.F.; *Plant Physiol. Biochem.*, **2011**, *49*, 471-482.
166. Pestana, M.; Correia, P. J.; Saavedra, T.; Gama, F.; Abadía, A.; de Varennes, A.; *Plant Physiol. Biochem.* **2012**, *53*, 1-5.
167. Blagojević, S.; Jakovljević, M.; Radulović, M.; *J. Agric. Sci.* **2002**, *47*, 1-8.
168. Szostek, R.; Cieccko, Z.; *Fluoride* **2014**, *47*, 294-306.
169. Zhu, S.; Zhang, J.; Dong, T.; *Environ Earth Sci.* **2009**, *59*, 379-84.
170. Loganathan, P.; Hedley, M.J.; Grace, N.D.; Lee, J.; Cronin, S.J.; Bolan, N.S.; Zanders, J.M.; *Aust. J. Soil Res.* **2003**, *41*, 501-532.
171. Patel, K.S.; Sahu, D.; Dahariya N.S.; Sahu, B.L.; Ramteke, S.; Blazhev, B.; Yubero, E.; Hoinkis, J.; *J. Environ. Protec.* **2015**, *6*, 1347-1359.
172. Supharungsun, S.; Wainwright, M.; *Bull. Environ. Toxicol.* **1982**, *28*, 632-636.
173. Fornasiero, R.B.; *Plant Sci.* **2001**, *161*, 979-985.
174. Weinstein, L.H.; Davison A.W.; *Fluorides in the environment: effects on plants and animals*, CABI Publishing, Wallingford, 2004.
175. Klumpp, A.; Klumpp, G.; Domingos, M.; Silva, M.D.; *Air Soil Pollut.* **1996**, *87*, 57-71.
176. Almeida, C.M.R.; Vasconcelos, M.T.S.D.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4788-4798.
177. Tighe, M.; Lockwood, P.; Wilson, S.; Lisle, L.; *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2004**, *35*, 1369-1385.
178. Petrotou, A.; Skordas, K.; Papastergios, G.; Filippidis, A.; *Fresenius Environ. Bull.* **2010**, *19*, 2769-2776.
179. Zeiner, M.; Cindrić, I.J.; Mikelić, I.L.; Medunić, G.; Kampić, Š.; Tomašić, N.; Stinger, G.; *Environ. Monit. Assess.* **2013**, *185*, 223-229.
180. Del Mastro, A.M.; Pereyra, M.; Londonio, A.; Pereyra, V.; Rebagliati, R.J.; Dawidowski, L.; Gómez, D.; Smichowski, P.; *Atmos. Environ.* **2014**, *98*, 299-307.
181. Dobrowolski, R.; *Spectrochim. Acta Part B* **1996**, *51*, 221-227.
182. Peris, M.; Recatalá, L.; Micó, C.; Sánchez, R.; Sánchez, J.; *Water Air Soil Pollut.* **2008**, *192*, 25-37.
183. Dos Santos, L.M.G.; Welz, B.; Araujo, R.G.O.; Jacob, S.C.; Vale, M.G.R.; Martens, A.; Martens, I.B.G.; Becker-Ross, H.; *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10089-10094.

184. Welz, B.; Dos Santos, L.M.G.; Araujo, R.G.O.; Jacob, S.C.; Vale, M.G.R.; Okruss, M.; Becker-Ross, H.; *Spectrochim. Acta Part B* **2010**, 65, 258-262.
185. Campbell, A.D.; *IUPAC* **1987**, 59, 695-702.
186. Taflik, T.; Duarte, F.A.; Flores, É.L.M.; Antes, F.G.; Paniz, J.N.G.; Flores, É.M.M.; Dressler, V.L.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2012**, 23, 488-495.
187. Saha, J.K.; Kundu, S.; *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2003**, 34, 181-188.
188. Isherwood, K.F.; *Mineral Fertilizer Use and the Environment*; International Fertilizer Industry Association, Revised Edition, Paris, 2000.
189. Tesfai, M.; Drescher, S.; *West Manage.* **2009**, 29, 851-859.
190. Malavolta, E.; *Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos*; Produquímica, São Paulo 1994.
191. Nziguheba, G.; Smolders, E.; *Sci. Total Environ.* **2008**, 390, 53-57.
192. Cheney, M.A.; Swinehart, J.H.; *J. Am. Water Resour. Assoc.* **1998**, 34, 1051-1060.
193. Martinez, A.; *Fertilizer use statistics and crop yields*. International Fertilizer Development Center, Alabama, 1990.
194. Giovannini, E. ; Manfroi, V.; *Viticultura e Enologia - Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros*. 1<sup>st</sup> ed. Instituto Federal de Educação - Ciência e Tecnologia, Bento Gonçalves, 2009.
195. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Decreto nº 55871 de 26/03/1965.
196. Cohen, H.J.; Drew, R.T.; Johnson, J.L.; Rajagopalan, K.V.; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1973**, 70, 3655-3659.
197. Vyskocil, A.; Viau, C.; *J. Appl. Toxicol.* **1999**, 19, 185-192.
198. European Food Safety Authority; *EFSA J.* **2013**, 11, 3333.
199. McGrath, S.P.; Micó, C.; Curdy, R.; Zhao, F.J.; *Environ. Pollut.* **2010**, 158, 3095-3102.
200. Mendel, R.R.; Kruse, T.; *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, 1823, 1568-1579.
201. Van-Gestel, C.A.M.; McGrath, S.P.; Smolders, E.; Ortiz, M.D.; Borgman, E.; Verweij, R.A.; Buekers, J.; Oorts, K.; *Environ. Pollut.* **2012**, 162, 1-7.
202. Eskew, D.L.; Welch, R.M.; Cary, E.E.; *Plant Physiol.* **1983**, 76, 691-693.
203. Graham, R.D.; Welch, R.M.; Walker, C.D.; *A role of nickel in the resistance of plants to rust*; Australian Society of Agronomy, Horbat 1985.
204. Brown, P.H.; Welch, R.M.; Cary, E.E.; *Plant Physiol.* **1987**, 85, 801-803.
205. Cheng, C.; Huang, D.; Liu, J.; *Clean* **2009**, 37, 304-313.

206. Denkhaus, E.; Salnikow, K.; *Critic. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, 42, 35-56.
207. European Food Safety Authority, *EFSA J.* **2015**, 13, 4002.
208. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instrução Normativa SDA nº 27 de 05/06/2006.
209. Baxter, M.J.; Crews, H.M.; Dennis, M.J.; Goodall, L.; Anderson, D.; *Food Chem.* **1997**, 60, 443-450.
210. Thiel, G.; Geisler, G.; Blechschmidt, I.; Danzer, K.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 378, 1630-1636.
211. Sperková, J.; Suchánek, M.; *Food Chem.* **2005**, 93, 659-663.
212. Azcarate, S.M.; Martinez, L.D.; Savio, M.; Camiña, J.M.; Gil, R.A.; *Food Control* **2015**, 57, 268-274.
213. Alkıs I.M.; Öz, S.; Atakol, A.; Yilmaz, N.; Anlı R.E.; Atakol, O.; *J. Food Comp. Anal.* **2014**, 33, 105-110.
214. Borges, A.R.; Becker, E.M.; Lequeux, C.; Vale, M.G.R.; Ferreira, S.L.C.; Welz, B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2011**, 66, 529-535.
215. Borges, A.R.; Becker, E.M.; François, L.L.; Jesus, A.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Dessuy, M.B.; Andrade, J.B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2014**, 101, 213-219.
216. Borges, A.R.; Becker, E.M.; François, L.L.; Jesus, A.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; *Microchem. J.* **2015**, 119, 169-175.
217. El-Bahi, S.M.; El-Dine, N.W.; El-Shershaby, A.; Sroor, A.; *Health Phys.*, **2004**, 86, 303-307.
218. Molina, M.; Aburto, F.; Calderón, R.; Cazanga, M.; Escudey, M.; *Soil and Sediment Contam.* **2009**, 18, 497-511.
219. Webb, S.; Bartos, J.; Boles, R.; Hasty, E.; Thuotte, E.; Thiex, N.J.; *J. AOAC Inter.* **2014**, 97, 700-711.
220. Ericson, S.P.; Mchalsky, M.L.; *Talanta* **1987**, 34, 271-276.
221. Huang, S.D.; Lai, W.R.; Shih, K.Y.; *Spectrochim. Acta Part B* **1995**, 50, 1237-1246.
222. González, M.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Talanta* **1999**, 48, 1051-1060.
223. Zhong, W.S.; Ren, T.; Zhao, L.J.; *J. Food Drug Anal.* **2015**, 1, 1-10.
224. Bulletin of the World Health Organization. *Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review*, Geneva, 1998.



225. Simões, C.M.O; Mentz, L.A.; Schenkel, E.P.; Irgang, B.R.; Stehmann, J.R.; *Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul*; 5<sup>th</sup> ed., Universidade/UFRGS, Porto Alegre, 1998.
226. Brasileiro, B.G.; Pizziolo, V.R.; Matos, D.S.; Germano, A.M.; Jamal, C.M.; *Rev. Bras. Cienc. Farm.* **2008**, 44, 629-636.
227. Malavolta, E.; Cruz, V.F.; *Gordon Breach Science* **1971**, 1, 1-13.
228. Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A.; *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*; 2<sup>nd</sup> ed., Associação Brasileira para Pesquisa do Fosfato, Piracicaba, 1997.
228. Farago, M.E.; Mehra, A.; *Plants and the chemical elements*; Wiley-VCH, New York, 1994.
230. Carlisle, E.M.; *Science Total Environ.* **1988**, 73, 95-106.
231. Wu, J. W.; Shi, Y.; Zhu, Y. X.; Wang, Y. C.; Gong, H. J.; *Pedosphere* **2103**, 23, 815-825.
232. Song, Z.; Wang, H.; Strong, P.J.; Li, Z.; Jiang, P.; *Earth-Science Rev.* **2012**, 115, 319-331.
233. Schwarz, K.; Milne, D.B.; *Nature* **1972**, 239, 333-334.
234. Bellés, M.; Sánchez, D.J.; Gómez, M.; Corbella, J.; Domingo, J.L.; *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **1998**, 12, 83-87.
235. Carlisle, E.M.; *Science* **1972**, 178, 619-621.
236. Sasaki, N.; Knorr, W.; Foster, D.R.; Etoh, H.; Ninomiya, H.; Chay, S.; Kim, S.; Sun, S.; *Appl. Energy* **2009**, 86, S140-S150.
237. Lim, J.S.; Manan, Z.A.; Alwi, S.R.W.; Hashim, H.; *Renewable Sustainable Energy Rev.* **2012**, 16, 3084-3094.
238. McKendry, P.; *Bioresour. Technol.* **2002**, 83, 37-46.
239. Onay, O.; *Fuel* **2007**, 86, 1452-1460.
240. Özbay, N.; Apaydin-varol, E.; Uzum, B.; Putun, A.; *Energy* **2008**, 33, 1233-1240.
241. Álvarez-Flórez, J.; Egusquiza, E.; *Eng. Failure Anal.* **2015**, 50, 29-38.
242. Sevimoglu, O.; Tansel, B.; *J. Environ. Manage.* **2013**, 128, 300-305.
243. Frech, W.; Cedergren, A.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 113, 227-235.
244. Nater, E.A.; Burau, R.G; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 220, 83-92.
245. Shoukry, A.F.; Issa, Y.M.; Farghaly, R.A.; Grasserbauer, M.; Puxbaum, H.; Rendl, J.; *Fresenius J. of Anal. Chem.* **1998**, 360, 650-653.

246. Resano, M.; Aramendía, M.; Volynsky, A.B.; Belarra, M.A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2004**, 59, 523-531.
247. Souza, P.F.; Santos Jr. D.; Carvalho, G.G.A.; Nunes, L.C.; Gomes, M.S.; Guerra, M.B.B.; Krug, F.J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2013**, 83-84, 61-65.