

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

**Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne *in natura* e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite**

Isabel Cristina Ferreira Damin

Porto Alegre, agosto de 2009

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

Isabel Cristina Ferreira Damin

**Investigação da amostragem direta para determinação  
de elementos traço em carne *in natura* e em petróleo  
usando espectrometria de absorção atômica com forno  
de grafite**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutor em Química

Profa. Dra. Márcia Messias da Silva  
Orientadora  
Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale  
Co-orientadora

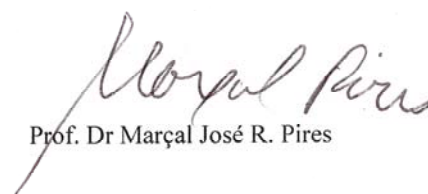
Porto Alegre, agosto de 2009

A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (Setembro/2005) e (Agosto/2009), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Márcia Messias da Silva e Co-orientação da Professora Doutora Maria Goreti R. Vale. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

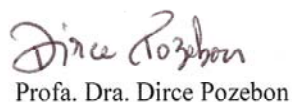
**Comissão Examinadora:**



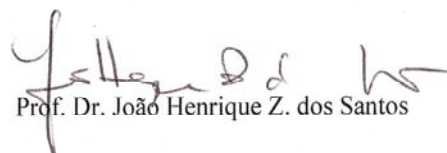
Prof. Dr. Francisco José Krug



Prof. Dr. Marçal José R. Pires



Profa. Dra. Dirce Pozebon



Prof. Dr. João Henrique Z. dos Santos



Profa. Dra. Márcia Messias da Silva



Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale



Doutoranda Isabel Cristina Ferreira Damin

*A minha querida mãe, Isabel,  
pelo seu amor, incentivo e apoio incondicional  
em todos esses anos de estudos*

*A Deus pela força espiritual e pela vida...  
Dedico*

*A minha orientadora, Dra. Márcia,  
pela confiança, incentivo,  
amizade e grandiosa orientação*

*A minha co-orientadora, Dra. Maria Goreti,  
pelo incentivo e amizade*

*Agradeço a vocês, minhas mães científicas, por tudo que me ensinaram e por terem me  
aberto as portas para o enorme desejo de fazer pesquisa!*

*Dedico*

## Sinceros agradecimentos

Ao meu amado filho Matheus e ao meu esposo Abraão pelo amor e compreensão.

Ao meu pai, Ely, as minhas queridas irmãs Fabricia e Gisella, e ao meu amado sobrinho, Gustavo, pelo incentivo, amor e carinho.

Ao Dr. Bernhard Welz, pelas valiosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

A Annelise, Alessandro e Tamara pela dedicação e ajuda neste trabalho. E pela agradável convivência no laboratório.

Em especial aos meus amigos de laboratório, Emilene, Liane, Ariane, Nédio, Alex, Roger, Pedro, Álvaro, por tudo que vivemos, principalmente as alegrias.

A Morgana pela amizade e coleguismo durante todos esses anos de pesquisa, pelas longas conversas e risadas.

A Maria Aparecida, fiscal do Ministério da Agricultura do Brasil, pela oportunidade da realização de estágio, troca de experiências profissionais e amizade.

Ao CNPQ pela bolsa concedida.

À Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS, em especial as Dras. Márcia M. da Silva e Maria Goreti R. Vale, pelo apoio e desenvolvimento do método no forno de grafite.

Aos professores da Pós-graduação do Instituto de Química da UFRGS, em especial aos profs. Dra. Elina e Dr. João Henrique, pelo exemplo e amizade nesses anos de pesquisa.

Ao Programa de Pós Graduação do Instituto de Química da UFRGS, pela oportunidade.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

**Muito obrigada!**

## **TRABALHOS GERADOS A PARTIR DOS RESULTADOS DESCRITOS NA TESE**

### **ARTIGO SUBMETIDO REFERENTE AO TRABALHO**

1. DAMIN, I. C. F.; MENEGAT, A.; BORGES, A. R.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.

Determination of cadmium and lead in fresh meat by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*.

### **ARTIGOS PUBLICADOS REFERENTES AO TRABALHO**

1. DAMIN, I. C. F.; DESSUY, M. B.; CASTILHOS, T. S.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.; KATSKOV, D. A.

Comparison of direct sampling and emulsion analysis using a filter furnace for the determination of lead in crude oil by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta. Part B, Atomic Spectroscopy*, v.64, p.530 – 536, 2009.

2. DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B.

Feasibility of using direct determination of cadmium and lead in fresh meat by electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes. *Spectrochimica Acta. Part B, Atomic Spectroscopy*, v.62, p.1037 - 1045, 2007.

3. SILVA, M. M., DAMIN, I. C. F., VALE, M. G. R., WELZ, B.

Feasibility of using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation analysis of volatile and non-volatile compounds of nickel and vanadium in crude oil. *Talanta (Oxford)*, v.71, p.1877 - 1885, 2007.

4. DAMIN, I. C. F., HAMMES, A. S., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B.

Investigación del muestro directo de sólidos para la AAS, con horno de grafito, para determinar el plomo en la carne bovina in natura. *LabCiencia con noticias técnicas del laboratorio*, v.15, p.8 - 11, 2007.

## **TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS REFERENTES AO TRABALHO**

1. MENEGAT, A., DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., VALE, M. G. R.; Análise de suspensões por GF AAS: Determinação de Cádmio em carne *in natura*; In: **XX Salão de iniciação científica**, 2008, Porto Alegre.
2. CASTILHOS, T. S., DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., VALE, M. G. R.; Análise direta por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite: Determinação de chumbo em amostras de petróleo; In: **XX Salão de iniciação**, 2008, Porto Alegre.
3. DAMIN, I. C. F., DESSUY, M. B., CASTILHOS, T. S., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Comparison of the use of a filter furnace and direct solid sampling for lead determination in crude oil samples by ET AAS; In: **Tenth Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, 2008, Salvador.
4. SILVA, M. M., DAMIN, I. C. F., MENEGAT, A., CASTILHOS, T. S., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Determinação de cádmio em carne *in natura* usando amostragem de suspensões em ET AAS; In: **31<sup>a</sup> Reunião Anual sociedade brasileira de química**, 2008, Águas de Lindóia.
5. DAMIN, I. C. F., CASTILHOS, T. S., MENEGAT, A., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Amostragem direta em GF AAS: determinação de cádmio em carne *in natura*; In: **30<sup>a</sup> Reunião Anual Sociedade Brasileira de química**, 2007, Águas de Lindóia.
6. SILVA, M. M., DAMIN, I. C. F., CASTILHOS, T. S., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Determinação de chumbo em petróleo usando amostragem direta por GF AAS; In: **14<sup>a</sup> Encontro Nacional de Química Analítica**, 2007, João Pessoa.



7. VALE, M. G. R., DAMIN, I. C. F., CASTILHOS, T. S., ASSIS, M. S., SILVA, M. M., WELZ, B.; Direct determination and validation of lead in fresh bovine meat using solid sampling GF AAS; In: **Colloquium Analytische Atomispektroskopie 07**, 2007, Konstanz.
8. DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., MENEGAT, A., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Emprego de planejamento fatorial para a otimização de suspensões de carne *in natura* para determinação de chumbo por GF AAS; In: **14<sup>a</sup> Encontro Nacional de Química Analítica**, 2007, João Pessoa.
9. VALE, M. G. R., SILVA, M. M., DAMIN, I. C. F., HAMMES, A. S., WELZ, B.; Speciation analysis of volatile and non-volatile compounds of nickel and vanadium in crude oil using solid sampling GF AAS; In: **Colloquium Analytische Atomispektroskopie 07**, 2007, Konstanz.
10. HAMMES, A. S., DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M.; Determinação de níquel e vanádio por amostragem direta de petróleo em espectrometria de absorção atômica; In: **XVIII Salão de Iniciação Científica**, 2006, Porto Alegre.
11. DAMIN, I. C. F., HAMMES, A. S., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B. Investigation of using direct solid sampling GF AAS for lead determination in fresh bovine meat for screening purpose; In: **Ninth Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, 2006, Barquisimeto.
12. VALE, M. G. R., DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., WELZ, B., SILVA, A. F., LEPRI, F. G., BORGES, D. L. G., HEITMANN, U.; Speciation analysis of volatile and non-volatile nickel and vanadium compounds in petroleum using high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry; In: **ICAS**, 2006, Moscow.
13. SEBEN, L. L., DAMIN, I. C. F., SILVA, M. M., VALE, M. G. R., WELZ, B.; Estabilização e determinação de compostos voláteis e não voláteis de níquel em análise direta por GF AAS; In: **XIII Encontro de química da região sul**, 2005, Florianópolis.

## **TRABALHOS PREMIADOS EM EVENTOS**

**Título do trabalho:** Investigation of using direct solid sampling GF AAS for lead determination in fresh bovine meat for screening purpose.

**Autores:** DAMIN, I. C. F.; HAMMES, A. S.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R.; WELZ, Bernhard.

Este trabalho recebeu um dos três prêmios da LabCiencia na categoria de “Produtos Naturais”, durante o **9th Rio Symposium on Atomic Spectrometry**, realizado em Barquisimeto, Venezuela, de 4 a 10 novembro de 2006. Como parte do prêmio o trabalho foi publicado na revista com o título: “Investigación del muestro directo de sólidos para la AAS, con horno de grafito, para determinar el plomo en la carne bovina in natura. LabCiencia con noticias técnicas del laboratorio, 15 (2007) 8-11.”

## **TRABALHO ORAL APRESENTADO EM CONGRESSO**

**Título do trabalho:** Amostragem direta em GF AAS: determinação de cádmio em carne *in natura*.

**Autores:** DAMIN, I. C. F.; CASTILHOS, T. S.; MENEGAT, A.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.

Este trabalho foi apresentado oralmente na **30º Reunião Anual Sociedade Brasileira de química (SBQ), 2007**, Águas de Lindóia.

## SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABELAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1- INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	02
2.1- Análise direta de sólidos.....	02
2.1.1- Atributos necessários a uma técnica para a análise direta de sólidos.....	02
2.1.2- Técnicas utilizadas para análise direta de sólidos.....	08
2.1.2.1- Análise por ativação com nêutrons.....	08
2.1.2.2- Fluorescência de raios X.....	10
2.1.2.3- Espectroscopia de emissão em plasma induzido por <i>laser</i> .....	11
2.1.2.4- Espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado e Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.....	11
2.1.2.4.1- Ablação por laser acoplado a ICP.....	12
2.1.2.4.2- Vaporização eletrotérmica .....	13
2.1.2.5- Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	14
2.1.2.5.1- Análise de suspensões por GF AAS.....	15
2.1.2.5.2- Análise direta de sólidos por GF AAS.....	16
2.1.2.5.3- Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua.....	18
2.1.2.5.4- Modificadores químicos.....	19
2.2- Preparos de amostra utilizados para análise direta.....	21
2.3- Determinação de elementos-traço em petróleo.....	23
2.4- Determinação de elementos-traço em carne <i>in natura</i> .....	31
3- OBJETIVOS.....	36
4- PARTE EXPERIMENTAL.....	38

4.1-	Equipamentos.....	38
4.1.1-	Espectrômetro de absorção atômica.....	38
4.1.2-	Outros equipamentos.....	39
4.2-	Limpeza do material de preparo e armazenamento de soluções.....	40
4.3-	Reagentes e soluções.....	40
4.3.1-	Petróleo.....	40
4.3.2-	Carne.....	41
4.4-	Materiais de referência e amostras.....	41
4.4.1-	Petróleo.....	41
4.4.2-	Carne.....	42
4.5.	Procedimentos analíticos empregados.....	42
4.5.1-	Determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo por SS-GF AAS...	42
4.5.1.1-	Amostragem direta de sólidos – SS.....	42
4.5.1.2-	Análise das emulsões de petróleo (oléo-em-água) usando THFA ou plataforma PIN.....	43
4.5.1.3-	Recuperação de chumbo em amostras de petróleo.....	44
4.5.1.4-	Digestão das amostras de petróleo.....	45
4.5.1.5-	Programa de aquecimento.....	46
4.5.2-	Determinação de cádmio e chumbo em carne <i>in natura</i> usando GF AAS.....	47
4.5.2.1-	Digestão das amostras de carne <i>in natura</i> .....	47
4.5.2.2-	Amostragem direta de sólidos - SS.....	47
4.5.2.2.1-	Amostras <i>in natura</i> .....	47
4.5.2.2.2-	Amostras secas, CRM (s) e amostra liofilizada.....	47
4.5.2.3-	Suspensões de carne <i>in natura</i> em Hidróxido Tetrametilamônio (TMAH).....	48
4.5.2.4-	Programa de aquecimento.....	49
5-	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1-	Determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo por SS-GF AAS....	51
5.1.1-	Programa de aquecimento e modificadores.....	51
5.1.2-	Influência da massa de amostra.....	56
5.1.3-	Figuras de mérito.....	60
5.1.4-	Resultados analíticos.....	63

5.2-	Determinação de chumbo em amostras de petróleo por SS-GF AAS e GF AAS com diferentes atomizadores (PIN e THFFA).....	67
5.2.1-	Modificadores e programa de aquecimento.....	67
5.2.1.1-	Amostragem direta de sólidos (SS).....	67
5.2.1.2-	Análise de emulsões usando THFA GF AAS.....	71
5.2.2-	Sinais de atomização.....	72
5.2.3-	Figuras de mérito.....	73
5.2.4-	Resultados analíticos.....	76
5.2.5-	Validação.....	77
5.3-	Determinação de cádmio e chumbo em carne <i>in natura</i> usando SS-GF AAS....	78
5.3.1-	Seleção do comprimento de onda.....	78
5.3.2-	Programa de aquecimento e modificadores.....	79
5.3.3-	Erros de amostragem e influência da massa.....	83
5.3.4-	Figuras de mérito.....	85
5.3.5-	Resultados analíticos.....	86
5.4-	Determinação de cádmio e chumbo em carne <i>in natura</i> em amostragem por suspensão usando GF AAS.....	89
5.4.1-	Otimização do preparo da suspensão.....	90
5.4.2-	Programa de aquecimento e modificador.....	93
5.4.3-	Figuras de mérito.....	97
5.4.4-	Erros de amostragem e influência da massa.....	98
5.4.5-	Resultados analíticos.....	98
6-	CONCLUSÃO.....	101
7-	BIBLIOGRAFIA.....	104

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 -	Figura ilustrativa da influência da homogeneidade na determinação de um analito.....	04
Figura 2 -	Sistemas para amostradores de sólidos.....	17
Figura 3 -	Curvas de temperatura de pirólise para níquel (2,6 ng) e amostra OB3 por GF AAS.....	27
Figura 4 -	Curvas de pirólise para níquel em amostra de petróleo e padrão por HR-CS AAS.....	28
Figura 5 -	Curvas de temperatura de pirólise para (a) níquel e (b) vanádio por GF AAS..	29
Figura 6 -	Sinais de absorvância para níquel em petróleo (OB3) em 13 ciclos consecutivos de atomização usando uma plataforma tratada com 400 µg Ir.....	52
Figura 7 -	Curvas de temperatura de pirólise para níquel. (a) 2ng de padrão; (b) amostra de petróleo (OB3).....	54
Figura 8-	Curvas de temperatura de pirólise para vanádio.....	55
Figura 9-	Influência da massa de amostra na linearidade de resposta usando dois diferentes modos de utilizar o modificador.....	59
Figura 10-	Perfis de absorvância para níquel e vanádio.....	62
Figura 11-	Fluxograma usado na determinação de níquel e vanádio.....	64
Figura 12-	Influência da massa de amostra na linearidade de resposta usando dois modos diferentes de aplicar o modificador para chumbo em amostras de petróleo.....	69
Figura 13-	Curvas de temperatura de pirólise para chumbo usando SS-GF AAS.....	70
Figura 14-	Curvas de temperatura de pirólise para chumbo usando THFA GF AAS.....	72
Figura 15-	Perfis de absorvância para chumbo.....	73
Figura 16-	Curvas de temperatura de pirólise para chumbo em solução aquosa em músculo bovino (NIST SRM 8414).....	80
Figura 17-	Curvas de temperatura de pirólise para cádmio na solução aquosa em fígado bovino.( NIST SRM 1577b).....	81
Figura 18-	Perfis de absorvância para chumbo e cádmio.....	82
Figura 19-	Superfície de resposta da concentração de chumbo em função da massa de amostra (M) e volume de TMAH (V) para otimização do preparo da suspensão.....	93

Figura 20-	Curvas de temperatura de pirólise para chumbo (a) e cádmio (b) em solução aquosa e na amostra de carne <i>in natura</i> em suspensão (BL2) com Pd/Mg como modificador químico.....	95
Figura 21-	Perfis de absorvância para chumbo (a, c, e) e cádmio (b, d, f) em padrão aquoso: 1 ng Pb (a) e 0,05 ng Cd (b); CRM em suspensão (SRM1577) (c, d); amostra de carne <i>in natura</i> (BL2) em suspensão.....	96

## INDÍCE DE TABELAS

Tabela I -	Origem e faixa concentração aproximada de elementos importantes em óleos crus e produtos do petróleo.....	24
Tabela II -	Parâmetros instrumentais para determinação de cádmio, chumbo, níquel e vanádio.....	38
Tabela III -	Volumes usados nas diferentes técnicas	44
Tabela IV -	Programa de aquecimento para a determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo, utilizando SS-GF AAS.....	46
Tabela V-	Programa de aquecimento para a determinação de chumbo em petróleo, utilizando SS-GF AAS, THFA e PIN por GF AAS.....	46
Tabela VI-	Programa de aquecimento para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de carne por GF AAS usando análise direta (SS) a técnica de suspensão e a de digestão.....	49
Tabela VII-	Coeficientes da variação (CV) das medidas de níquel em amostras de petróleo.....	57
Tabela VIII-	Figuras de mérito para determinação de níquel e vanádio em petróleo usando emulsões, padrões aquosos e CRM para calibração, sem e com a adição de paládio como modificador químico.....	61
Tabela IX-	Resultados analíticos obtidos para níquel no CRM e em várias amostras de petróleo com (Ni total) e sem (Ni estável) a adição de 20 µg Pd com Triton-X 100 como modificador; a fração volátil foi determinada por diferença.....	65
Tabela X-	Resultados analíticos obtidos para vanádio no CRM e em várias amostras de petróleo com (V total) e sem (V estável) a adição de 20 µg Pd com Triton-X 100 como modificador; a fração volátil foi determinada por diferença.....	66
Tabela XI-	Equação de regressão linear e coeficiente de correlação (R) para determinação de chumbo com diferentes atomizadores, usando emulsão e padrões aquosos por GF AAS.....	74
Tabela XII-	Figuras de mérito para a determinação de chumbo por GF AAS.....	75
Tabela XIII-	Resultados analíticos obtidos para chumbo em amostras de petróleo usando SS-GF AAS, PIN e THFA GF AAS.....	76



Tabela XIV-	Coefficientes de variação das medidas de cádmio e chumbo em amostras de carne usando diferentes modificadores; todas as misturas de modificadores contém Triton X-100.....	84
Tabela XV-	Figuras de mérito para a determinação chumbo e cádmio por GF AAS.....	86
Tabela XVI-	Determinação de chumbo e cádmio em materiais de referência de carne usando SS-GF AAS e calibração versus padrões aquosos.....	87
Tabela XVII-	Resultados analíticos obtidos para chumbo em carne <i>in natura</i> , seca e digerida usando diferentes modificadores.....	88
Tabela XVIII-	Resultados analíticos obtidos para cádmio em amostras de carne <i>in natura</i> , seca e digerida.....	88
Tabela XIX-	Resultados obtidos de um planejamento fatorial de nível três aplicado para determinação de chumbo em amostras de carne <i>in natura</i> em suspensão.....	92
Tabela XX-	Figuras de mérito para determinação de chumbo e cádmio por GF AAS.....	97
Tabela XXI-	Determinação de chumbo e cádmio em materiais de referência de carne em suspensão com TMAH usando GF AAS e calibração versus padrões aquosos.....	99
Tabela XXII-	Resultados analíticos obtidos para chumbo e cádmio em amostras de carne <i>in natura</i> em suspensão com TMAH e digeridas.....	99

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Absorção atômica.
ANOVA	Análise de variância
BG	Sinal de fundo (do inglês: “background”).
CRM	Material de referência certificado (do inglês: “certified reference material”).
EPA	Agência de proteção ambiental (do inglês: “Environmental Protection Agency”)
ETV	Vaporização eletrotérmica (do inglês: “electrothermal vaporization”).
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês: “Flame atomic absorption spectrometry”).
FMD	Febre aftosa (do inglês: “foot and mouth disease”).
GDL	Lâmpada de descarga incandescente (do inglês: “glow discharge lamp”).
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. (do inglês: “Graphite furnace atomic absorption spectrometry”).
HR-CS AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês: “high-resolution continuum-source AAS”).
ICP MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês: “Inductively coupled plasma mass spectrometry”).
ICP OES	Espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (do inglês: “Inductively coupled plasma optical emission spectrometry”).
LA	ablação por laser (do inglês: “laser ablation”)
LASER	Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação (do inglês: “light amplification by stimulated emission of radiation”).
LD	Limite de detecção.
LIBS	Espectroscopia de emissão em plasma induzido por <i>laser</i> (do inglês: “laser induced breakdown spectroscopy”).
LQ	Limite de quantificação.
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

NAA	Análise por ativação neutrônica (do inglês: “Neutron Activation Analysis”).
OIE	Organização mundial de saúde animal (do inglês: “World Organisation for Animal Health”).
PIN	Forno com plataforma PIN (é um tipo convencional de plataforma).
RM	Material de referência.
SS	Análise direta de sólidos (do inglês: “solid sampling”).
Ta	Temperatura de atomização.
THFA	Forno com filtro (do inglês: “transversely heated filter atomizer”).
TMAH	Hidróxido tetrametilamônio (C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> NOH).
Tp	Temperatura de pirólise.
PNCR	Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal.
XRF	Fluorescência de raios X (do inglês: “X-Ray fluorescence”).

## RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos diferentes métodos analíticos para serem aplicados rotineiramente na determinação direta de elementos de interesse em amostras de petróleo e de carne *in natura*, usando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Os métodos foram baseados na análise das amostras mediante introdução direta no forno de grafite (SS-GF AAS), sem nenhum tratamento prévio. Inicialmente foi investigada a possibilidade da determinação direta de níquel, vanádio e chumbo em amostras de petróleo. A fim de contornar as perdas de compostos voláteis, foi investigado o uso de diferentes modificadores químicos (convencional e permanente) e os resultados obtidos foram comparados com HR-CS AAS (espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua). As análises de amostras de petróleo em emulsões usando um Forno com filtro (THFA) foram também investigadas para determinação de chumbo. Na segunda parte do trabalho foi investigada a determinação direta de chumbo e cádmio em amostras de carne *in natura* (amostrada diretamente ou sob a forma de suspensão). Todos os resultados foram satisfatórios para aplicação de rotina, e a comparação entre os resultados obtidos para os métodos propostos e os obtidos com os métodos tradicionais não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

## ABSTRACT

The goal of this work was to investigate different methods using graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) for direct determination of elements of interest in petroleum and fresh meat to be applied as a rapid routine procedure. The methods were based on analysis of samples weighed directly onto solid sampling platforms and introduced into a transversely heated solid sampling graphite tube, without previous treatment. In the first moment it was investigated of the possibility of direct determination of nickel, vanadium and lead in petroleum. In order to avoid the problem of losses of volatile compounds different chemical modifiers (conventional and permanent) have been investigated and the results obtained were compared with those obtained by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS AAS) by emulsion technique. The analysis of petroleum samples in emulsions using a filter furnace (THFA) was also investigated for lead determination. In the second part of this work it was investigated a method for direct determination of lead and cadmium in fresh bovine meat (solid or slurry sampling). The overall result was very satisfactory for routine application, and the comparison with the conventional methods shows no significant statistical differences between the results.

## 1. INTRODUÇÃO

A maior parte dos métodos usados para determinação de elementos traço e ultratraço em amostras sólidas requer uma prévia digestão da amostra, que envolve tratamento com ácidos em frascos abertos ou fechados [1,2].

A fim de evitar estes procedimentos de digestão, vem sendo desenvolvidos métodos para determinação de metais analisando-se diretamente amostras sólidas por diferentes técnicas. Dentre as diversas técnicas destaca-se a análise direta de sólidos (SS) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). No entanto, técnicas que envolvam a espectrometria de absorção atômica não são métodos absolutos e dependem de uma comparação com outros métodos de referência, ou com um conjunto de normas ou com materiais de referência certificados (CRM).

O uso da SS-GF AAS tem aumentado nos últimos anos, principalmente porque acessórios robustos e confiáveis para SS-GF AAS se tornaram disponíveis no mercado no final dos anos 90 do século passado [3]. As principais vantagens dessa técnica são limites de detecção extremamente baixos devido à ausência de diluição e o risco mínimo de contaminação, além da velocidade de análise devido a não necessidade de tratamento da amostra. Entre as limitações mencionadas em relação a SS-GF AAS estão às dificuldades de calibração e o uso de modificadores químicos. No entanto, em uma recente revisão sobre esse assunto [3] foi relatado que calibrações com padrões aquosos e modificadores químicos, incluindo modificadores permanentes, têm sido usados por muitos autores para vários tipos de amostras [4,5,6,7,8]. A maioria das amostras analisadas por SS-GF AAS estão na forma sólida e requerem alguns tratamentos prévios de modo a garantir uma boa precisão e exatidão dos resultados.

Apesar das características favoráveis e dos excelentes resultados para diversas matrizes, pode-se considerar que o número de aplicações da SS-GF AAS ainda é pequeno para amostras que não sofreram nenhum pré-tratamento [3]. Portanto, o desenvolvimento e otimização de métodos analíticos utilizando análise direta de materiais viscosos (como petróleo) e materiais com alto teor de água (carne *in natura*) por SS-GF AAS, apenas com uma homogeneização simples é algo inovador e de grande interesse analítico, sócio-econômico e ambiental.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ANÁLISE DIRETA DE SÓLIDOS

Um dos principais objetivos da Química Analítica atual é a redução do tempo de análise e dos custos, mas também a busca por resultados confiáveis. No entanto, para a determinação de elementos essenciais e tóxicos em baixas concentrações, a maioria das técnicas analíticas utilizadas requer que a amostra esteja na forma de uma solução [9]. Usualmente, as amostras são convertidas em soluções aquosas por meio de procedimentos clássicos de dissolução como via seca para materiais orgânicos, fusão para materiais inorgânicos refratários, e dissolução ácida por via úmida em altas temperaturas para materiais orgânicos e inorgânicos [10]. Na maioria das vezes o pré-tratamento da amostra usando esses métodos demanda o uso de reagentes de alto grau de pureza e alto custo; também exige prática e experiência do analista [11].

A fim de minimizar esses problemas, vem sendo desenvolvidos métodos para determinação de metais analisando amostras sólidas diretamente. Para analisar diretamente amostras sólidas podem ser utilizados dois procedimentos distintos: análise direta ou via suspensão [12]. A suspensão consiste basicamente no preparo da amostra sólida finamente moída, homogeneizada em meio líquido.

#### 2.1.1. Atributos necessários a uma técnica para a análise direta de sólidos

A escolha de uma técnica analítica adequada para a determinação de metais depende de vários fatores. Kurfurst [13] cita alguns fatores importantes que influenciam e devem ser levados em consideração na análise direta de sólidos:

##### a) A técnica deve ser aplicável a uma grande variedade de amostra

Nos últimos anos houve um grande desenvolvimento e interesse na determinação de elementos essenciais e tóxicos em diversas matrizes. Para que análise direta seja satisfatória em relação às técnicas tradicionais, esta deve ser aplicável a uma grande variedade de materiais.

**b) A análise deve ser relativamente rápida**

É evidente que os resultados obtidos para a análise direta são mais rápidos do que os obtidos com alguma forma de preparo de amostra, pois na análise direta apenas uma pequena etapa de pré-tratamento de amostra, geralmente homogeneização, é necessária para a obtenção de uma amostra teste adequada para a análise. Os resultados da análise podem levar minutos, se as informações sobre a concentração aproximada do analito forem disponíveis, desde a chegada da amostra ao laboratório. Esse tempo geralmente é muito curto em relação aos outros procedimentos clássicos de pré-tratamento de amostra como a dissolução por via seca ou úmida.

Avalia-se a velocidade analítica através da razão do número de amostras analisadas por hora, tendo a calibração já estabelecida, com isto pode-se determinar se a técnica é rápida. Para uma avaliação quantitativa comparativa em detalhes do tempo total da análise por diferentes métodos analíticos, deve-se levar em conta todas as etapas do método, desde o preparo de amostra, caso seja necessário, até a forma de introdução da amostra no equipamento.

**c) Deve possibilitar a análise de massas relativamente elevadas de amostra para evitar problemas de não homogeneidade**

A homogeneidade é um importante pré-requisito que deve ser considerado para a análise direta de sólidos. Esse parâmetro depende de fatores como a natureza do material, a densidade, a massa de amostra a ser utilizada e a concentração do elemento de interesse.

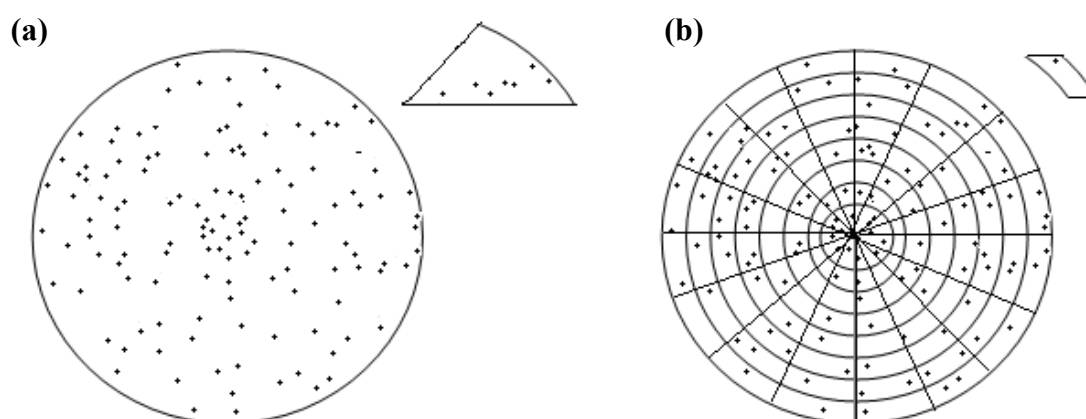
De acordo com o Guia ISO 35 [14], um material é perfeitamente homogêneo com relação a uma determinada característica, se ao comparar duas partes distintas do mesmo material, não houver diferença observável (característica da amostra) e nos parâmetros da medida (geralmente o desvio padrão).

Nomura *et. al.* [10] em uma recente revisão enfatizaram sobre os principais aspectos da homogeneidade na análise direta de sólidos. Em geral, massas de amostras de 100 a 500 mg são utilizadas para digestão ou solubilização. Nesses casos, a homogeneidade não é um fator limitante e não deve gerar erros associados à falta de homogeneidade da amostra, como pode ser observado na Figura 1a. Por outro lado, quando massas muito pequenas são usadas para a análise (0,01 a 1,00 mg) a micro homogeneidade torna-se um parâmetro crítico. As diferentes porções de amostras usadas podem conter os elementos de interesse em diferentes



quantidades com apresentado na Figura 1b, ocasionando uma grande imprecisão entre as medidas e, desta forma, comprometendo os resultados analíticos. Quando se trabalha com massas pequenas é necessário estabelecer uma massa mínima para garantir a representatividade da amostra e da exatidão dos resultados.

A homogeneização é uma das etapas mais importantes e críticas do processo de produção de um material de referência certificado (CRM). Esses materiais são utilizados para verificar a exatidão e a precisão do método. Para isto é necessário que a homogeneidade seja bem definida. A maioria dos CRM (s) disponíveis no mercado apresentam homogeneidade garantida para massas de 100 a 500 mg. Portanto, isto é um problema, pois técnicas baseadas em micro-análise utilizam massas menores do que 10 mg. Para resolver este problema, alguns esforços estão sendo realizados no sentido de produzir materiais que sejam homogêneos para massas pequenas [10].



**Figura 1** - Figura ilustrativa da influência da homogeneidade na determinação de um analito (•): (a) grande massa de amostra e (b) pequena massa de amostra. Figura cedida por Nomura *et al.* [10].

#### **d) É desejável que seja multielementar**

A utilização de técnicas para determinação multielementar de elementos essenciais e tóxicos tem se desenvolvido muito nos últimos anos devido ao aumento do número de análises e da variedade de matrizes analisadas. Devido a estes fatores as pesquisas estão sendo incentivadas no sentido de tornar possível a determinação multielementar seqüencial ou

simultânea de metais pela análise direta de sólidos com o objetivo de se ter uma maior redução no tempo de análise e dos custos. Mesmo havendo desafios a serem superados na determinação multielementar, esta alcançou avanços que mais uma vez a colocam em novos rumos a fim de suprir os anseios da química moderna.

#### **e) Um ótimo branco analítico**

Na Química Analítica, esforços contínuos estão sendo feitos para se obter melhores limites de detecção (LD), a fim de determinar as menores quantidades de analito que podem ser detectados pelos métodos. Em geral, o LD é obtido com base nas medidas do branco analítico e o ideal é que esse tenha concentrações do analito muito pequenas ou inexistentes.

Geralmente, o branco analítico na análise direta de sólidos pode ser obtido pela amostra ou algum material similar sem a presença do analito, pois a matriz pode gerar interferências que vão refletir nos resultados analíticos. O branco em amostras líquidas não é crítico. Nesse caso, um branco sintético composto pode ser preparado misturando solventes e elementos majoritários presentes na matriz.

Para a análise direta por GF AAS é comum o emprego da técnica “resposta de massa zero” para determinação do LD do equipamento. Essa técnica consiste em realizar dez medidas, introduzindo repetidamente a plataforma de amostragem sólida vazia no atomizador. Em alguns casos quando é necessário o uso de modificadores químicos, somente este é depositado na plataforma e após segue-se um ciclo regular de atomização.

#### **f) A padronização deve ser simples**

Para as diferentes técnicas analíticas a calibração é uma etapa de preocupação, pois o analista tem como obrigação o dever de encontrar um material e método de calibração adequado à técnica. Também, cabe chamar a atenção que esta etapa torna-se muito importante na análise direta de sólidos devido a forte influência da matriz.

Essas técnicas que dispensam o preparo de amostra são muito úteis para os laboratórios de controle de qualidade de produtos industriais, nos quais a rapidez é essencial para o controle do processo. Nestes casos, os elementos determinados são conhecidos, bem como a faixa de concentração esperada, sendo possível o desenvolvimento de padrões de calibração sólidos, agilizando a resposta analítica, por dispensar a etapa de dissolução da

amostra. Para laboratórios de pesquisa e desenvolvimento, que recebem diversos tipos de amostras e onde são determinados diferentes íons metálicos, técnicas que não dependam de padrões de calibração sólidos, são preferidas.

O emprego de solução aquosa na calibração é mais simples, apresenta baixo custo e as soluções não apresentam problemas de homogeneidade. Porém, o seu emprego em técnicas de análise direta de sólidos nem sempre é possível. Para resolver este problema os CRM (s) são empregados, mas a sua composição deve ser idêntica ou mais próxima possível do material que está sendo analisado para minimizar interferências. Para construir a curva analítica utilizando um CRM, pode-se preparar de duas maneiras: pesam-se massas crescentes de um CRM ou massas iguais de vários CRM (s) de um mesmo tipo de material com diferentes concentrações do analito; esta última é também conhecida como curva de correlação. As curvas analíticas com a adição de analito também podem ser construídas com misturas de quantidades conhecidas do analito com a amostra. Com este método de calibração é possível avaliar se o analito presente na amostra é afetado pela matriz [13].

Embora o CRM seja o ideal para calibração, para análise direta de sólidos, existem algumas limitações que devem ser consideradas: muitos materiais não são certificados para alguns elementos de interesse; o custo é alto; é difícil encontrar um CRM com composição semelhante a diversos tipos de amostras e a maioria dos CRM (s) disponíveis no mercado apresentam homogeneidade garantida somente para massas relativamente grandes [10]. Para diminuir essa falta de homogeneidade, uma moagem adicional ou o uso de novas técnicas de moagem (ex. por criogenia) torna-se necessária, mesmo que aumente o risco de perdas do analito, contaminação ou o tempo de análise [15]. Além disso, deve-se levar em consideração nos resultados das análises os erros que estão embutidos devido à incerteza da concentração do analito no CRM.

#### **g) O custo da análise deve ser o mais baixo possível**

A fim de comparar métodos de análise, do ponto de vista econômico, o custo da análise deve ser considerado de grande importância. Uma análise completa e econômica é uma tarefa importante, quando se compara a análise direta de sólidos com as técnicas tradicionais, onde o preparo de amostra é um trabalho exaustivo requerendo muita mão de obra, além de precisar de mais equipamentos, reagentes e instrumentação o que requer maior espaço no laboratório. Para a maioria das técnicas de análise direta, o espaço necessário em

laboratório é menor, pois necessita de menos equipamentos para o preparo da amostra, resultando em um menor investimento.

#### **h) Boa exatidão e precisão**

De acordo com as orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) [16]:

A exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (tendência). Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são, entre outros: uso de CRM, participação em comparações inter-laboratoriais e realização de ensaios de recuperação.

Sempre que possível, os CRM (s) devem ser utilizados no processo de validação de um método de ensaio. Um CRM possui um valor de concentração, ou outra grandeza, para cada parâmetro e uma incerteza associada. A produção de um CRM cabe tecnicamente a um órgão competente (organização ou empresa, pública ou privada) que produza certificados de referência em conformidade com os princípios gerais e estatísticos detalhados nas normas ISO 31 e 35 [17]. Algumas instituições conhecidas que vendem os CRM (s) são NIST (“National Institute of Standards and Technology”), IRMM (“Institute for Reference Materials and Measurements”), BAM (“Bundesanstalt fuer Materialpruefung”), IAEA (“International Atomic Energy Agency”), IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo), etc.

O uso correto dos CRM (s) consiste na sua análise para avaliar o desempenho do laboratório ou método. Quando o valor obtido não estiver dentro do intervalo da região de aceitação para o valor certificado, o laboratório deve procurar as causas desse desvio e procurar eliminá-las [16].

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos para uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões em condições definidas. É normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as duas formas mais comuns de expressá-la são por meio da repetitividade e da reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio padrão ou coeficiente de variação [16]. Ambas, repetitividade e reprodutibilidade são geralmente dependentes da concentração

do analito e, deste modo, devem ser determinadas para diferentes concentrações e, em casos relevantes, a relação entre a precisão e a concentração do analito deve ser estabelecida.

No caso do uso da análise direta de sólidos a precisão pode ser menor devido à natureza da amostra, que muitas vezes pode ser complexa contendo compostos voláteis que podem interferir na pesagem. No entanto, valores maiores de imprecisão são aceitos, pois outros erros são evitados devido à redução de etapas no preparo da amostra. É melhor um resultado impreciso, mas exato do que um resultado preciso, porém inexato devido a possíveis erros ocorridos durante a preparação da amostra.

### **2.1.2. Técnicas utilizadas para análise direta de sólidos**

Embora cresça o desenvolvimento e as aplicações de técnicas para a análise direta de sólidos, a escolha deve ser feita com cuidado, levando-se em consideração os fatores citados anteriormente.

Algumas técnicas mais tradicionais vêm sendo utilizadas ao longo dos anos para a análise de sólidos, tais como a análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) e a espectrometria de fluorescência de raios-X (XRF). Uma recente técnica que foi desenvolvida para a análise direta de sólidos é a espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (LIBS). Além dessas, outras técnicas que são usadas tradicionalmente para análise de líquidos, como GF AAS, ICP OES e ICP-MS têm sido investigadas para análise de sólidos e/ou suspensões, principalmente utilizando acessórios acoplados que permitem introdução da amostra sólida. Segue abaixo uma descrição sintetizada das principais técnicas que vem sendo utilizadas.

#### **2.1.2.1. Análise por ativação com nêutrons**

A INAA é amplamente conhecida por sua boa sensibilidade na faixa de  $\text{mg L}^{-1}$  a %) para detecção e por permitir a determinação multielementar de um grande número de elementos químicos (aproximadamente 12 elementos) [18]. Esse método de análise é não destrutivo, onde um nêutron interage via uma colisão inelástica, com o núcleo de um dado elemento e forma um núcleo composto excitado. O núcleo composto quase que instantaneamente decai para uma configuração mais estável, através da emissão de um ou mais raios gama característicos. Em muitos casos esta nova configuração poderá gerar um núcleo radiativo que irá decair lentamente com a emissão de um ou mais raios gama

característicos em um tempo específico para a meia vida de cada núcleo radiativo formado. O tempo de decaimento ou emissão pode levar, dependendo do elemento irradiado, de frações de segundos a anos.

A INAA apresenta algumas vantagens em relação aos métodos convencionais de análise por eliminar o ataque químico às amostras, inexistência de efeitos de interferência de matriz, necessidade de pequena quantidade de amostra, além de apresentar uma boa precisão e exatidão. A INAA é geralmente utilizada como método de referência quando são desenvolvidos novos procedimentos, e é uma técnica que o “National Institute of Standards and Technology”, NIST, utiliza para certificar a concentração de elementos em CRM (s) [19].

A principal limitação desta técnica é o custo e produção de resíduos radiativo, pois é necessária uma fonte de nêutrons oriunda de um reator nuclear. Para isto são necessárias instalações especiais, manipulação de materiais radiativos e mão de obra altamente especializada. Além destas limitações o método não possibilita a obtenção de resultados imediatos, podendo necessitar, em média de 2 a 4 semanas e também não consegue determinar elementos como Cd, Pb, Cu e Ni em baixas concentrações [18, 19].

O preparo da amostra é quase que sem manipulação (envolve a formação de uma pastilha). Contudo, é necessário que a amostra seja similar aos padrões e uma alternativa para solucionar este problema é a deposição de  $\text{SiO}_2$  de alta pureza sobre a matriz. Deve-se tomar o cuidado para que o tamanho da amostra e dos padrões seja semelhante para que não ocorra a autoabsorção de nêutrons. Também é necessário utilizar frascos de polietileno, pois a amostra é exposta a um elevado fluxo termal.

Seo *et. al.* [20] propuseram uma forma interessante de preparar padrões sintéticos (Br, Cl, K, Mg, Mn e Na) para a calibração. Pipetaram 50  $\mu\text{L}$  das soluções diluídas, preparadas a partir de solução padrão, sobre tiras de papel de filtro (WHATMAN nº 40). As tiras do papel foram colocadas em dessecador para secagem a temperatura ambiente. Após, foram dobradas e colocadas em invólucros de polietileno, os quais foram selados com ferro elétrico para soldar para posterior análise. As amostras de mexilhões foram limpas, trituradas, homogeneizadas, secas por meio de liofilização, moídas e peneiradas para posterior pesagem (~180 mg) em invólucros de polietileno. Amostras e o CRM foram irradiados em reator nuclear (IEA-R1) juntamente com os padrões sintéticos. Erros relativos de 20,6% foram obtidos para Mg e para os demais elementos foram menores do que 13,6%.

A INAA vem sendo utilizada em diversas aplicações como verificar a autenticidade de obras de arte, impurezas em semicondutores, rochas, matrizes biológicas, entre outras.

### **2.1.2.2. Fluorescência de raios X**

A Fluorescência de raios X (XRF) teve início no campo da Química Analítica por volta de 1940, quando o primeiro equipamento de XRF tornou-se comercialmente viável. O fenômeno da fluorescência de raios X representa uma pequena parte do complexo processo de interação de partículas ou fótons com a matéria, que induz emissões secundárias (partículas ou fótons), as quais são os princípios de diferentes técnicas analíticas.

Dentro da XRF outras variantes podem ser utilizadas, como a fluorescência de raios X baseada na dispersão de comprimento de onda (WD-XRF), que surgiu com excelente vantagem em relação a análise seqüencial. Atualmente, no mercado, cerca de 20% dos equipamentos fazem análise simultânea. No entanto, a principal desvantagem é o custo bastante elevado. A XRF baseada na dispersão de energia (ED-XRF) possui algumas vantagens em relação à WD-XRF, por permitir a análise simultânea; nesse caso o equipamento possui um custo mais baixo. É uma técnica analítica não destrutiva e pode ser aplicada em diversas amostras no estado sólido ou líquido [21,22].

Recentemente, surgiu a micro-fluorescência de raios X ( $\mu$ -XRF), tendo como grande vantagem a possibilidade de analisar elementos traço e a sua distribuição superficial na amostra. Para esta técnica as amostras são preparadas na forma de pastilha e devem ser o mais plana possível. A  $\mu$ -XRF, por ser uma técnica muito recente, no momento apresenta a restrição de existir um único equipamento na América do Sul, no Laboratório Nacional de Luz Sincroton (LNLS) [23, 24,25].

A maioria dos materiais analisados por XRF apresentam composição química complexa. Teoricamente, a intensidade dos raios X característicos emitidos por um elemento é proporcional ao número de átomos ionizados desse elemento químico. Portanto, as intensidades medidas em fluorescência de raios-X geralmente são proporcionais às concentrações do analito na amostra. Experimentalmente, verifica-se em muitos casos, que a intensidade dos raios X característicos é significativamente afetada pela matriz. Os efeitos da matriz podem ocasionar desvios positivos ou negativos em relação à resposta ideal, resultando em reforço ou absorção da intensidade da linha espectral. Esses efeitos são ditos inter-elementares e dependem das frações de massa dos elementos na amostra e da relação entre

seus coeficientes de absorção para radiação primária e secundária. Para resolver esses problemas na análise quantitativa por XRF, vários estudos têm sido realizados envolvendo correções de efeitos de matriz [22].

Nas técnicas de XRF, a introdução da amostra sólida requer um mínimo tratamento, essa deve estar na forma de pó para ser prensada. As amostras metalúrgicas sofrem um polimento (um corpo de prova é retirado) e as amostras em pó são prensadas, prensadas com aglomerante ou fundidas (pastilha prensada ou moldada por fusão).

### **2.1.2.3. Espectroscopia de emissão em plasma induzido por *laser***

A LIBS tem como principal característica o uso de pulsos de laser como fonte de energia para vaporizar e excitar a amostra com posterior emissão de radiação eletromagnética, a partir de seus elementos e/ou fragmentos moleculares. A radiação emitida é analisada por meio de instrumentos ópticos de alta resolução e as suas intensidades são medidas, usualmente com detectores de estado sólido. Em conjunto, esses dispositivos permitem a geração e a medida de um espectro de emissão de faixa ampla [26].

Em uma recente revisão Pasquini *et. al.* [26] abordam os principais aspectos da técnica: instrumental, vantagens, desvantagens, aplicações etc. Esta técnica tem como principais vantagens o fato do sistema ser relativamente simples e barato, possibilitando a minimização de tratamento de amostra, e ser quase que não destrutiva, ter boa velocidade de análise e ser tanto qualitativa quanto quantitativa. Além destas vantagens, o grande atrativo desta técnica é que ela permite o deslocamento do sistema para trabalho de campo e como alternativa pode ainda ser hifenada a outras técnicas. A técnica apresenta algumas limitações, como os LD (s) (na faixa de  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) e a precisão, que são maiores, ou seja, piores do que os obtidos com as técnicas de GF AAS e ICP OES (espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado). Além disso, a calibração deve ser realizada utilizando materiais sólidos [26].

### **2.1.2.4. Espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado**

As técnicas de espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP OES e ICP-MS) são excelentes fontes de vaporização, atomização, ionização e excitação de espécies.



Na técnica de ICP OES, a excitação de elementos é dada em um plasma de argônio. A energia do plasma é usada para converter os átomos e as moléculas a um estado excitado. As espécies excitadas retornam ao estado fundamental, emitindo fótons que são medidos por um sistema de detecção. A ICP OES apresenta uma excelente vantagem que é a sua capacidade multielementar. Contudo, a ocorrência de coincidência de linhas de emissão limita essa capacidade. Outro fator limitante é que os limites de detecção da técnica são maiores em relação ao GF AAS, diferentemente da técnica de ICP-MS que possuem ótimos limites de detecção, capacidade multielementar, podendo determinar elementos em nível de ultratraços e a possibilidade de análises isotópicas. Uma limitação da técnica é a ocorrência de severos processos de interferências matriciais, que exige criteriosa seleção das condições de calibração, diluição da solução da amostra e/ou separação da matriz.

Para a amostragem de suspensões por nebulização pneumática, o tratamento da amostra pode consistir em uma ou mais etapas de moagem. Contudo, devido à pequena massa de amostra utilizada nesses métodos, geralmente entre 10 e 500  $\mu\text{g}$ , é fundamental que o material moído apresente distribuição homogênea de tamanho de partículas. Essa condição pode ser crítica, principalmente na análise de suspensões em ICP-OES, na qual o tamanho de partículas requerido é, freqüentemente, menor que 10  $\mu\text{m}$  [27]. As suspensões podem ser introduzidas no ICP com o uso de um nebulizador tipo Babington [28]. Neste caso, o maior inconveniente são as interferências físicas. Além disso, espectros de emissão obtidos por fontes de plasma, arco e centelha são na maioria das vezes, muito complexos, sendo constituídos de centenas ou às vezes de milhares de linhas. Essa abundância de linhas, embora vantajosa quando se deseja informação qualitativa, aumenta a probabilidade de interferências espectrais na análise quantitativa

Diferentes sistemas têm sido propostos para analisar diretamente amostras sólidas, acoplados as técnicas de ICP, tais como a vaporização eletro térmica (ETV) e a ablação, seja por arco e centelha, lâmpada de descarga incandescente (GDL), ou *laser* (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação). No entanto, os métodos usando a ablação vêm sendo utilizados com sucesso em aplicações bem específicas [29,30].

#### **2.1.2.4.1. Ablação por *laser* acoplada a ICP**

O uso da ablação por *laser* (LA), combinada a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (LA-ICP OES) e espectrometria de massa com plasma

indutivamente acoplado (LA-ICP-MS) tem aumentado nos últimos anos. Em uma recente revisão, Russo *et. al.* [31] abordam os principais aspectos da técnica de LA-ICP como as interações entre o *laser* e a amostra, vantagens, desvantagens e aplicações. A técnica tem como vantagens o uso de menor massa de amostra (na faixa de  $\mu\text{g}$ ), menor manipulação da amostra, menor tempo de preparo da amostra e a possibilidade de empregos de amostras condutoras e não condutoras. Algumas limitações são observadas como as dificuldades encontradas quando se trabalha com amostras heterogêneas, pois é necessária uma boa homogeneidade da amostra e do estado da superfície da amostra sólida. Além disso, também é necessário um rigoroso controle no tamanho das partículas, apresenta baixa reprodutibilidade, dificuldades na calibração e relativo alto custo

Nos casos de equipamentos com amostradores à base de ablação por *laser* a amostra precisa ser lixada e às vezes lavada, pois o material é retirado progressivamente e superficialmente por evaporação, fusão, sublimação, erosão, *sputtering* e explosão [32]. No entanto, a principal dificuldade da técnica é obter padrões que tenham exatamente a mesma composição da amostra, para que não ocorram diferenças no transporte do aerossol (por exemplo, no percurso entre a câmara de ablação e o ICP) ou mesmo por causar diferença na ablação [32].

#### **2.1.2.4.2. Vaporização eletrotérmica**

A vaporização eletrotérmica (ETV) é um método de introdução de amostra que por meio de aquecimento, converte micro-quantidades de amostras líquidas ou sólidas em suspensão, em aerossóis secos para serem transportadas até um detector apropriado. Normalmente os detectores empregados envolvem ICP OES e ICP-MS [33].

As principais vantagens da ETV, em relação às técnicas que usam nebulizadores pneumáticos, são os melhores LD (s), elevada eficiência no transporte (20-80%) a qual em geral é menor do que 2% com nebulizadores pneumáticos, possibilitando o emprego de massas menores de amostra e do uso de padrão aquoso para a calibração. Além disso, possui um programa de aquecimento que possibilita a remoção da matriz e minimiza problemas de interferências. Uma das dificuldades da técnica é que pode ocorrer supressão causada pelo aumento da quantidade de compostos que atingem o plasma. O uso de ETV em relação a análise sem o ETV por ICP-MS tem uma grande desvantagem, pois trata-se de uma técnica

cara e ocorre uma redução considerável do número de elementos a ser determinado, devido as diferentes características térmicas [33,34,35].

Por outro lado, a análise de suspensões usando atomizadores ou vaporizadores eletrotérmicos é mais tolerante ao tamanho de partículas. Nesse caso, usualmente recomendam-se partículas menores que 100  $\mu\text{m}$  [36,37,38,39], mas suspensões com partículas de até 500  $\mu\text{m}$ , em algumas situações, podem ser aceitáveis [40,41].

#### **2.1.2.5. Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite**

O princípio fundamental da espectrometria de absorção atômica (AAS) envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos no estado fundamental. Os dois tipos de atomizadores mais usados em AAS são a chama (F AAS) e o forno de grafite (aquecimento eletro térmico). A F AAS é mais usada para determinação de elementos em altas concentrações (na ordem de  $\text{mgL}^{-1}$  ou %), enquanto que a GF AAS é utilizada para determinações de elementos na faixa de traço ( $\mu\text{gL}^{-1}$ ).

A GFAAS é uma técnica bastante empregada para a determinação de baixas concentrações de metais em diversos tipos de amostras, pois apresenta alta sensibilidade e seletividade, requerendo pequeno volume de amostra (< 100  $\mu\text{L}$ ) além da possibilidade de automação e de análise direta da amostra sólida, ou na forma de suspensões [42]. Essa técnica quando utilizada corretamente, apresenta baixo custo operacional. Além disso, apresenta uma importante vantagem em relação às outras técnicas analíticas como F AAS e ICP OES, pois o tempo de residência da amostra na etapa de pré-tratamento químico e térmico é maior, os quais podem ser realizados durante uma ou mais etapas do programa de aquecimento do forno [12]. Isto torna a técnica menos sujeita aos efeitos do tamanho e da volatilidade das partículas [43]. A forma de introdução da amostra sólidas em suspensão no atomizador é mais facilitada nesta técnica, necessitando apenas de um sistema simples para a introdução da amostra.

O uso dessa técnica foi fortalecido pela introdução do conceito STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*) por Slavin que, se seguido, leva ao sucesso da análise [42]. O conceito STPF consiste, fundamentalmente em:

1. Atomização do analito a partir de uma plataforma de L'Vov;
2. Alta velocidade de aquecimento na etapa de atomização;

3. Interrupção do gás interno durante a atomização;
4. Uso de absorvância integrada nas medidas dos sinais analíticos;
5. Emprego de modificadores químicos.

Este conceito tem sido muito aplicado, com resultados excelentes para a maioria das matrizes investigadas, permitindo a análise direta de sólidos com alta exatidão.

#### **2.1.2.5.1. Análise de suspensões por GF AAS**

Duas revisões resumem a literatura existente sobre amostragem de suspensão na análise de materiais sólidos por GF AAS: Cal-Pietro *et. al.* [12], entre 1990 e 2000, e uma crítica revisão de Vale *et. al.* [3], entre 1995 e 2005. Assim, apenas os aspectos mais importantes e desenvolvimentos recentes relacionados ao assunto deste trabalho foram considerados nesta revisão.

Ao se introduzir no atomizador a amostra na forma de suspensão, alguns problemas associados à amostragem direta de sólidos em GF AAS são evitados, devido a uma maior quantidade de amostra ser utilizada no preparo da suspensão. Conseqüentemente, reduzem-se as chances de erros devido à possibilidade da distribuição não-homogênea do analito no material sólido, erros associados à pesagem e operação de transferência da amostra. Outras vantagens comparadas à digestão ácida citadas na literatura são: aumento da sensibilidade analítica, decréscimo no tempo de análise e redução de custos [11]. Também pode-se citar a mesma e importante vantagem que foi anteriormente discutida na técnica de análise direta de sólidos: a curva analítica pode ser obtida, na maioria dos casos, com o emprego de padrões aquosos [3,12].

A análise de suspensões também apresenta algumas dificuldades; uma delas diz respeito ao cuidado que se deve ter com a moagem e peneiramento do material devido ao risco de contaminação, pois existe a necessidade de que as partículas sólidas sejam muito pequenas e estejam distribuídas homogêneas na suspensão no momento da amostragem. Esses cuidados são necessários para que se tenha uma boa precisão e exatidão da análise [11]. Para que a amostra fique bem distribuída no líquido, é necessária uma agitação mecânica ou manual. Análise de amostra na forma de suspensão tem sido relatado com sucesso para vários materiais [3,11].

### 2.1.2.5.2. Análise direta de sólidos por GF AAS

O uso da SS-GF AAS tem aumentado nos últimos anos, principalmente porque acessórios robustos e confiáveis para essa técnica se tornaram disponíveis no mercado no final da década de 90 [3]. Essa técnica tem como principais vantagens: limites de detecção (LD) extremamente baixos devido à ausência de diluição e risco mínimo de contaminação, aumento da velocidade de análise pelo método não requerer decomposição da amostra [13]. A manipulação reduzida de amostra faz da SS-GF AAS uma técnica bastante atraente para uma análise rápida de *screening* de um grupo de elementos e aplicações de rotina [3]. Entre as limitações estão: as dificuldades de calibração, a não-homogeneidade da amostra, a não representatividade devido às pequenas massas de amostras analisadas, uso de modificadores químicos, diluições são difíceis e a necessidade de uma balança de alta precisão (0,0001 mg). No entanto, em uma recente revisão sobre esse assunto [3] foi relatado que curvas analíticas com padrões aquosos e emprego de modificadores químicos, incluindo modificadores permanentes, têm sido usados por muitos autores para vários tipos de amostras [4,5,6,7,8].

As dificuldades anteriormente citadas em relação as amostras com altas concentrações dos elementos determinados tem sido solucionadas, recentemente, com duas possibilidades de diluições. Uma delas é a utilização de uma linha analítica de menor sensibilidade e a outra é o uso de um fluxo de gás inerte durante a etapa de atomização. Nesta etapa, comumente utiliza-se o fluxo de gás interrompido. É obvio que a alta sensibilidade da técnica pode também causar problemas no caso do uso de amostras com altas concentrações do analito e a precisão pode ser significativamente prejudicada devido à falta de homogeneidade, se forem analisadas alíquotas muito pequenas de amostras. Alguns trabalhos de nosso grupo reportam e discutem esse assunto, a seguir.

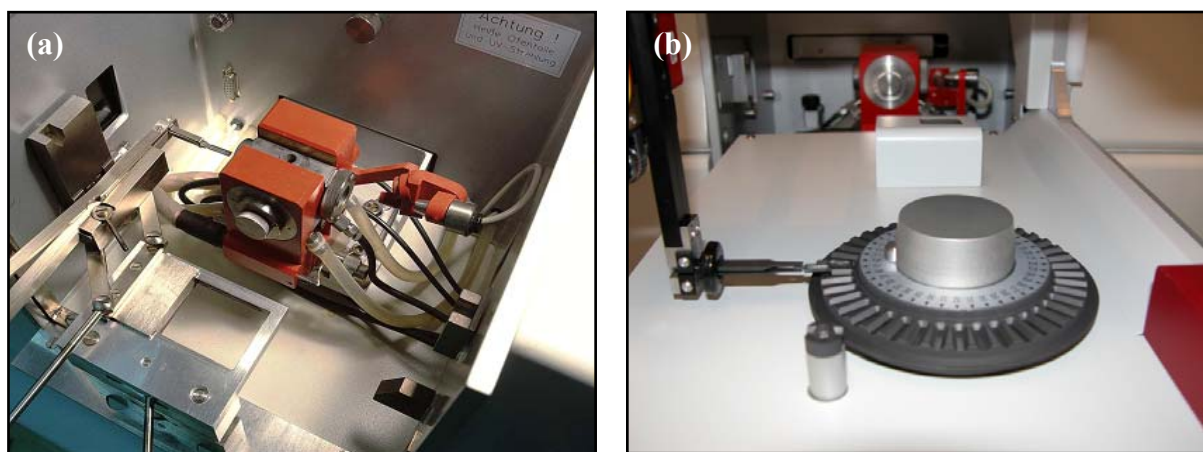
Silva *et. al.* [44] utilizaram para determinação de ferro em plantas de arroz o comprimento de onda 302 nm, de menor intensidade (27%) em comparação com a linha mais intensa, pois nos estudos realizados inicialmente verificaram que a concentração de ferro era muito alta nas amostras de plantas. Portanto, utilizando esta ferramenta foi possível analisar amostras com concentrações elevadas do analito em uma técnica com alta sensibilidade.

Vale *et. al.* [4] reportaram o uso de uma linha de cobre menos sensível, a de 216,5 nm (aproximadamente 5-10 vezes menos sensível, comparada a linha principal, de 324,75 nm), para a determinação do elemento em carvão por SS-GF AAS. No entanto, quando materiais de referência certificados de carvão foram utilizados foi observado, uma intensa interferência espectral nesta linha, a qual não pode ser eliminada pelo sistema de corretor de fundo

(lâmpada de deutério) do equipamento. Para resolver este problema, a alternativa foi utilizar uma outra linha intermediária (327,4 nm), cuja intensidade é cerca de três vezes menor do que a linha primária. Contudo, devido a alta sensibilidade da técnica foram necessárias introduções de massas pequenas de amostra (0,1-0,3 mg) no atomizador, o que resultou em uma alta imprecisão dos resultados obtidos para cobre.

Oleszczuk *et. al.* [15] aplicaram as duas possibilidades de diluição, para determinação de manganês em amostras de café. Para isso, utilizaram uma linha analítica de menor sensibilidade associada ao uso de um fluxo mínimo de gás inerte ( $0,1 \text{ L min}^{-1}$ ) durante a etapa de atomização, quando ocorre a medida do sinal analítico. Os resultados revelaram a possibilidade de analisar amostras com altas concentrações de manganês em amostras de café por SS-GF AAS.

Para a introdução de amostras sólidas no atomizador, hoje, encontra-se comercialmente disponível um modelo de GF AAS da AnalytikJena, que opera de modo convencional, com amostrador para líquidos ou com amostrador para sólidos. Existem dois sistemas de amostragem, como pode ser observado na Figura 2, um com operação manual, simples e mais barato, e outro com operações totalmente automatizadas.



**Figura 2** – Sistemas para amostragem de sólidos: (a) manual e (b) automático. Fonte: manual da AnalytikJena.

### 2.1.2.5.3. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua

A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) é uma técnica que está recentemente disponível comercialmente e oferece várias vantagens sobre a GF AAS convencional com fonte de linha [45,46,47].

Existem pelo menos duas diferenças distintas entre HR-CS AAS e GF AAS. A primeira é o uso de apenas uma lâmpada ao invés de uma lâmpada de cátodo oco ou de descarga sem eletrodo, que emite radiação específica para cada elemento. A lâmpada utilizada é de arco curto de xenônio de alta pressão (15 bar, quando fria), que opera em modo *hot spot* cuja emissão compreende a faixa contínua entre 190 e 850 nm, do espectro eletromagnético. Essa lâmpada é operada a uma potência de 300 W e a intensidade de emissão, dessa forma, excede a de uma lâmpada de cátodo oco em pelo menos 1 a 3 ordens de magnitude. A segunda diferença é o poder de alta resolução espectral do sistema óptico utilizado, onde todo o ambiente espectral da linha analítica de aproximadamente 0,2 nm, torna-se visível devido ao uso de um detector CCD (detector de arranjo de carga acoplada). De fato ao invés de um detector são 200 detectores usados para visualizar a área próxima da linha analítica. Portanto, torna-se muito fácil detectar alguma interferência espectral devido aos componentes da matriz.

A alta resolução e o uso de uma única fonte de radiação fazem da HR-CS AAS uma excelente ferramenta para desenvolvimento de métodos analíticos, permitindo resolver ou buscar alternativas aos problemas inerentes à GF AAS com fonte de linha. Além disso, esta técnica permite a análise direta de sólidos e líquidos.

A capacidade de uma exata correção, até mesmo para absorções de fundo bastante elevadas, torna possível o uso de temperaturas de pirólises muito baixas para descobrir perdas de compostos de alta volatilidade, como foi demonstrado no caso de níquel em amostras de petróleo [48].

Um dos novos e grandes atrativos da técnica é a análise multielementar seqüencial rápida. Dittert *et. al.* [49] determinaram direta e simultaneamente cromo e ferro em petróleo usando HR-CS AAS. Isso foi possível devido à proximidade da linha secundária de Fe (358,120 nm) à linha mais sensível de Cr (357,868 nm). Uma característica importante que possibilitou esta condição é a relação entre a sensibilidade das duas linhas analíticas e a proximidade da concentração obtida para os dois elementos investigados no petróleo. Além disso, ambos os analitos apresentaram semelhanças na volatilidade, de modo que não houve um compromisso maior em relação às temperaturas de pirólise e atomização. Portanto, a

técnica de HR-CS AAS permite até mesmo a análise direta de amostras complexas, sem maiores complicações [50].

Resano *et. al.* [51] desenvolveram um trabalho bem interessante no que diz respeito à amostragem de sólidos por HR-CS GF AAS. Esses autores determinaram chumbo em sangue seco em papel (cartelas utilizadas nos testes do pezinho realizados em bebês). Para a coleta do material o sangue é pipetado sobre o papel e depois de seco, com o auxílio de um furador, corta-se em discos de 3,2 mm de diâmetro contendo 1,5 mg do papel e 0,8 mg de sangue. Após, esse material é pesado diretamente na plataforma de grafite que é levada ao atomizador. Esse trabalho apresentou várias vantagens referentes à aplicação: a coleta sanguínea é realizada no local, é útil para amostragem em crianças, a mancha de sangue seco pode ser facilmente preservada e possibilita coleta de amostras em grandes áreas onde residem pessoas pobres.

#### **2.1.2.5.4. Modificadores químicos**

Um tema de interesse na análise por GF AAS é o uso de modificadores químicos, introduzidos por Ediger em 1975 [52]. Geralmente o modificador é um sal inorgânico, o qual é adicionado à amostra e às soluções analíticas, geralmente numa concentração muito maior do que a do elemento de interesse [53]. O modificador pode tornar o interferente mais volátil ou o elemento a ser determinado mais refratário, permitindo um aumento da temperatura de pirólise. Com isto pode-se minimizar o espalhamento de radiação e a formação de moléculas na etapa de atomização, quando a medida é efetuada [54].

Um bom modificador deve apresentar as seguintes características [12, 53]:

1. A temperatura de pirólise deve ser a maior possível. Quando são utilizadas temperaturas de pirólise  $> 1000$  °C, boas separações são obtidas;
2. O emprego das temperaturas de pirólise e atomização devem ser semelhantes para a maioria dos analitos investigados;
3. Ser de fácil obtenção e de alto grau de pureza para todos os analitos;
4. Não deve contribuir com os altos valores de absorção de fundo (BG)
5. Se possível, não deve diminuir a vida útil do atomizador;
6. Os limites de detecção não devem ser aumentados pelo uso do modificador;
7. No caso do uso de modificador permanente, esse deve permanecer no atomizador o maior tempo possível;



8. Não deve conter os analitos que serão determinados na análise;
9. Deve possibilitar aplicação a uma ampla variedade de matrizes.

Welz *et. al.* [55] investigaram 21 elementos que podem ser estabilizados com a mistura de nitrato de paládio e magnésio. A grande vantagem da mistura Pd/Mg é ser considerada como um modificador “universal”, pois um único modificador pode ser usado para a maioria dos elementos e é amplamente aplicável para uma grande variedade de matrizes. Uma das limitações do uso de Pd/Mg é a sua alta força de estabilização que implica em altas temperaturas de atomização, as quais resultam em altos valores de massa característica para alguns elementos, devido ao aumento da perda do analito por difusão.

Ortner *et. al.* [56] resumiram em um artigo de revisão vários modificadores usados e revestimentos dos atomizadores para espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ET AAS) e seus mecanismos de ação.

Os modificadores químicos promovem alterações no comportamento termoquímico do analito e da matriz, suprimindo interferências nas determinações empregando ET AAS [53,57]. Os componentes do sistema analítico que se alteram com o uso dos modificadores químicos são o analito, a matriz, a fase gasosa, e o atomizador (superfície).

O primeiro requisito de um modificador químico é sua eficiência em estabilizar termicamente o analito durante a etapa de pirólise. Além disso, os modificadores também atuam aumentando a volatilidade da matriz, facilitando a separação das espécies interferentes durante a etapa de pirólise. Os modificadores químicos mais utilizados para aumentar a volatilidade da matriz são  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  [52],  $\text{HNO}_3$  [58], ácidos orgânicos [58],  $\text{NH}_4\text{F}$  [57] e  $\text{HBF}_4$  [57].

O modificador químico pode ser adicionado sobre a amostra quando ela já estiver na plataforma, isto antes do programa de aquecimento ser executado. Em alguns casos o modificador pode ser previamente misturado à amostra antes da tomada da alíquota para a análise. Embora ambos os procedimentos tenham vantagens e aplicações específicas, os mesmos podem causar contaminações além de aumentar o tempo total de análise, o que não é atraente quando se trabalha em rotina.

Alternativamente, a fim de evitar estes problemas, o modificador pode estar presente no tubo de grafite na forma de um depósito - modificador permanente - eliminando a necessidade de mistura com a amostra, além de estabilizar certo número de elementos também evita riscos de contaminação [59]. Neste caso o modificador é depositado nas

paredes do tubo de grafite ou sobre a plataforma de L'vov por eletrodeposição ou pipetagem da solução do modificador e após o tubo é submetido a um tratamento térmico. O tubo "recoberto" pode ser limpo *in-situ* por aquecimento, reduzindo os riscos de contaminação, e um mesmo tubo pode ser usado para várias determinações sem a necessidade de um novo recobrimento. Elementos do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru), bem como elementos formadores de carbetos (Zr, W, Nb, Ta), vêm sendo estudados [59], como modificadores permanentes.

Os modificadores químicos podem ser utilizados facilmente na análise direta usando o método de suspensão, pois o contato é eficaz entre as partículas das amostras e do modificador. No entanto, este contato efetivo não é necessário para estabilização do analito, uma vez que este torna-se móvel bem antes da sua atomização, e pode ser eficientemente trapeado mesmo que não esteja em contato direto com o modificador [3].

Vale *et. al.* [4] empregaram em 2001, pela primeira vez o uso de modificador permanente na análise direta de sólidos por GF AAS para determinação de Cd e Pb em carvão mineral, usando Ru como modificador permanente. Após esse trabalho outros elementos também foram usados como modificadores permanentes na SS-GF AAS, como estão reportados em uma revisão [3].

É importante lembrar que, os conceitos STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*) por Slavin, foram fortalecidos pelos desenvolvimentos instrumentais e o uso de diferentes modificadores químicos, que auxiliaram no sucesso da análise por GF AAS [42].

## **2.2. PREPAROS DE AMOSTRA UTILIZADOS PARA ANÁLISE DIRETA**

A determinação de elementos traço usando a análise direta incluindo SS-GF AAS requer, muitas vezes, etapas de pré-tratamento preliminares. A maioria destas etapas envolve procedimentos físicos, como lavagem, secagem, moagem, peneiramento, refrigeração ou agitação mecânica, dependendo do tipo de amostra.

A lavagem é restrita a alguns tipos de materiais, exclusivamente a algumas partes de vegetais como, raízes, folhas e frutos [60]. Em alguns casos é necessário a lavagem devido a poeira ou resíduos de pulverização no local de coleta. No entanto, devem-se levar em conta os elementos que serão determinados e as possíveis contaminações nesta etapa.

A etapa de secagem até peso constante é comum para amostras sólidas que apresentam teor de água em quantidade variável e em forma não determinada. Nestes casos é necessário

que não ocorra perda do analito por volatilização ou decomposição térmica da amostra. A secagem pode ser feita em estufas, que é muito comum, ou por liofilização, processo em que a amostra é congelada (entre -80 e -60 °C) e depois seca sob vácuo (entre -20 e +40 °C). Quando as amostras são secas em estufa deve-se ter o cuidado de que atinja peso constante para evitar erros decorrentes de perda de massa durante a pesagem.

Normalmente a secagem é feita a 105 °C para as amostras de solos, rochas, minérios e sedimentos. Para os materiais biológicos normalmente secos em estufa com circulação de ar, a temperatura pode variar de 60 a 65 °C. Em alguns casos materiais como minerais (aluminatos e silicatos) necessitam de temperaturas maiores que 1000 °C [60].

A homogeneidade da amostra, tão desejada na análise direta, é assegurada quando se reduz o tamanho das partículas por meio de procedimentos de moagem do material analisado. Existem diferentes tipos de moinhos mecânicos, como o liquidificador e o processador, o almofariz e pistilo, os moinhos de facas ou disco e bolas. Para a escolha de um moinho mecânico deve-se levar em conta muitos fatores, como tamanho desejado das partículas, quantidade de amostra disponível, capacidade de massas que o moinho pode moer, velocidade de moagem, da constituição final do produto moído e do elemento a ser determinado. O uso de determinado moinho pode ser crítico, se houver risco de contaminação principalmente se os analitos estiverem presentes em baixas concentrações. Esta possível fonte de contaminação ocorre basicamente pelo choque entre a amostra e o material que compõe o moinho [13,60]. Em uma revisão sobre síntese de ligas por processos de moagem, Suryanarayana [61] apresentou os aspectos mais importantes e os tipos de moinhos mais utilizados.

No caso de materiais biológicos ou outros que apresentem alto teor de fibras e gordura a homogeneização preferencialmente é realizada utilizando moagem criogênica. O princípio da técnica consiste em promover o congelamento da amostra que fica mais dura e conseqüentemente provoca falhas na estrutura. Devido a estes fatores a amostra torna-se mais quebradiça, o que auxilia no processo de moagem que vai requerer uma energia menor para diminuição do tamanho das partículas. Além de a moagem ser rápida, dependendo do material processado as partículas obtidas podem ter tamanhos inferiores a 150 µm [60]. No entanto, a técnica apresenta uma limitação, associada ao estresse mecânico sofrido pelas peças móveis do moinho sob baixas temperaturas. Para resolver este problema, um moinho diferente foi desenvolvido, nesse foi implementado moinhos com o conjunto de moagem constituído de um tubo de policarbonato com uma barra magnética e duas tampas de aço inoxidável. Esse moinho apresenta outras vantagens em relação aos outros, pois permite uma moagem mais

rápida de materiais mais duros (i.e. ossos, quartzo, dentes, polímeros, etc.) e de difícil homogeneização (fibras, borrachas, tecidos animais com alto teor de umidade e gordura, etc.). Além disso, ocorre uma diminuição dos riscos de contaminação entre as amostras, pois cada amostra é moída em um conjunto individual de moagem [60]. Júnior *et. al.* [62] resumem a literatura criticamente as aplicações que abordam a moagem criogênica para métodos de preparo de amostra.

Como vimos anteriormente nesta revisão, para análise direta, as amostras geralmente necessitam de alguma forma de tratamento. Portanto, analisar amostras que não sofreram nenhuma forma de pretratamento é algo inovador, tratando-se principalmente de amostras como materiais viscosos (petróleo) e materiais com alto teor de água (carne *in natura*).

### 2.3. DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM PETRÓLEO

O petróleo representa uma mistura complexa de compostos orgânicos. Além disso, uma ampla variedade de elementos traço também está presente nesse material, em concentrações variando em níveis de  $\text{mg kg}^{-1}$  até poucos  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Esses elementos podem estar presentes em formas químicas muito diferentes, tais como complexos orgânicos, sais de ácidos orgânicos ou como compostos inorgânicos.

Caumette *et. al.* [63], em uma recente revisão identificaram e caracterizaram as espécies metálicas determinadas em petróleo, óleos residuais, em frações de óleos, gás natural e gás condensado. Particular atenção foi dada a cromatografia hífenada com ICP OES e ICP-MS. Além disso, métodos de fracionamento das espécies metálicas foram criticamente revisados. Segundo estes autores, as principais classes de espécies metálicas em petróleo incluem: (i) porfirinas metálicas que estão ligadas principalmente a Ni, V, F ou Cu; (ii) caracterizações insuficientes e espécies não-porfirínicas altamente hipotéticas, e (iii) sais de ácidos naftênicos que se ligam principalmente a Ca, Mg, Zn, Ti e também a outros elementos.

A determinação de elementos traço em petróleo é difícil devido à natureza complexa da amostra e às diferentes formas nas quais os elementos podem ser encontrados. Entretanto a informação sobre a concentração de elementos-traço em petróleo está ganhando importância tanto para caracterização geoquímica da origem do mesmo como para permitir ações corretivas durante a produção e refino do petróleo como, por exemplo, prevenção de envenenamento de catalisadores, corrosão e controle da poluição ambiental [64]. Um maior

conhecimento do teor de determinados elementos traço presentes no petróleo e em seus derivados poderá auxiliar na busca de metodologias rápidas e de baixo custo para a efetiva remoção dos mesmos.

A classificação do petróleo pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) [65] é baseada nas principais características que devem ser consideradas em um derramamento de petróleo, tais como toxicidade geral, estado físico e mudanças que podem ocorrer com a ação do tempo. As classes são as seguintes:

**Classe A** - óleos leves e voláteis - produtos mais refinados, são petróleos leves e são considerados tóxicos tanto a humanos quanto a outras formas de vida.

**Classe B** – óleos viscosos – são menos tóxicos e incluem bases de óleos pesados de parafina.

**Classe C** – óleos viscosos e pesados – inclui óleos de resíduo combustível e óleos crus pesados com baixa toxicidade.

**Classe D** – óleos sem fluido – possui toxicidade relativamente baixa e incluem óleos residuais, óleos crus pesados e alguns óleos parafínicos.

A Tabela 1 apresenta a origem dos elementos presentes em óleos crus e produtos derivados do petróleo bem como a faixa de concentração.

**Tabela I** - Origem e faixa de concentração aproximada de elementos importantes em óleos crus e produtos derivados do petróleo [42].

<b>Produto, Origem</b>	<b>Elementos</b>	<b>Faixa de concentração (mg/kg)</b>
Óleo cru	Ni, V	200 – 2
- específicos de origem	As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Pb, Zn	1 - 0,001
- contaminação	Na, Fe	200 – 2
Ambiente, refinamento, estocagem	Al, Cd, Cu, Fe, Pb, Si, Ti, Zn	20 - 0,001
Aditivos em óleos	Ba, Ca, Mg, Mo, Na, Pb, Zn	20.000 – 200
Sabões, espessantes em graxas	Al, Ca, K, Li, Mg, Na, Si	20.000 – 200
Metais provenientes do uso em óleos usados	Ag, Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sn, Ti, V, W, Zn	200 - 0,1

Os óleos crus contêm elementos metálicos sob a forma de complexos íons organometálicos. Níquel e vanádio são derivados principalmente da gênese do óleo cru. As concentrações e razão desses elementos podem ser usadas para traçar a origem geológica do óleo cru, assim como a migração e maturação [66]. Além disso, níquel é um sério envenenador de catalisadores enquanto que vanádio leva a problemas de corrosão.

Em recentes revisões sobre determinação de elementos-traço em petróleo [67] e em seus derivados [68], foi enfatizado que as principais técnicas utilizadas ultimamente para essas análises são: GF AAS, ICP OES, ICP-MS e F AAS. Isto provavelmente se deve ao fato de que essas técnicas apresentam boa sensibilidade ou requerem um pré-tratamento mínimo das amostras, como a diluição do petróleo com solventes orgânicos, evitando procedimentos de queima para obtenção de cinzas ou digestão, os quais são morosos e podem levar a perdas de analitos ou contaminação.

Inclusive os métodos adotados pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) [69,70] para determinação de Ni, V, Fe e Na em amostras de petróleo utilizam as técnicas de F AAS e ICP OES. No entanto, elas estão limitadas para faixas de concentração em torno de  $\text{mg kg}^{-1}$ , e sujeitas a interferências espectrais e não-espectrais que dificultam a identificação e quantificação de analitos em matrizes complexas como a de petróleo. Apesar da capacidade multielementar, as técnicas de ICP, baseadas em nebulização, geralmente requerem diluição significativa de amostras altamente viscosas em um solvente orgânico apropriado antes da introdução da amostra no plasma. Além disso, têm sido reportado na literatura [71], problemas relacionados com a sobrecarga do plasma com vapores de solventes orgânicos tornando-o instável pela variação de suas características físicas o que, conseqüentemente, afeta o desempenho geral da técnica.

Em ICP-MS, a presença de vapores de solvente orgânico pode ainda causar deposição de carbono na superfície do cone de amostragem, no *skimmer* e nas lentes de íons, afetando a eficiência de transporte dos íons para o analisador de massa. Adicionalmente, interferências poliatômicas causadas por espécies de carbono-argônio limitam seriamente a quantificação de alguns elementos. Visando a minimização desses problemas, têm sido utilizados sistemas especiais para introdução de amostras para diminuir a quantidade de solvente que alcança o plasma, tais como nebulização ultrasônica [64], micronebulizadores [72,73], análise por injeção em fluxo [74], cromatografia a gás [75] e ETV [76,77,78].

Heilmann *et. al.* [79] recentemente desenvolveram um método para determinação multielementar em amostras de petróleo e resíduo de óleos, utilizando diluição isotópica e

ablação a *laser* (LA ICP-IDMS). Soluções contendo compostos organo metálicos de isótopos enriquecidos (V-50, Cr-53, Cu-65, Fe-57, Ni-62, Zn-68, Cd-113, Sn-117, e Pb-206) foram preparadas, a partir de uma solução aquosa correspondente, usando extração líquido-líquido dos íons metálicos complexados, com isobutil metil cetona. A amostra assim preparada foi absorvida em um material de celulose, que foi fixado em um suporte especial de PTFE para ablação.

Para F AAS, embora as chamas utilizadas sejam bastante tolerantes à maioria dos solventes orgânicos, o principal problema se deve a baixa e diferente sensibilidade observada para vários compostos orgânicos de um mesmo elemento [42,80,81].

Lang *et. al.* [82] relataram em uma revisão 52 referências onde os autores determinaram metais em petróleo e resíduos de petróleo, dando ênfase à AAS. Como apresentado na literatura a GF AAS tem mostrado ser uma boa alternativa uma vez que a introdução da amostra no atomizador não é consideravelmente afetada pelas diferentes características físicas da mesma, e o programa de aquecimento permite a eliminação quase que completa da matriz. A análise da amostra diluída com solvente apropriado por GF AAS seria a forma mais prática, mas têm sido reportados problemas associados à baixa estabilidade do analito nos padrões e na amostra diluídos com solventes orgânicos [48,83,84,85,86,87].

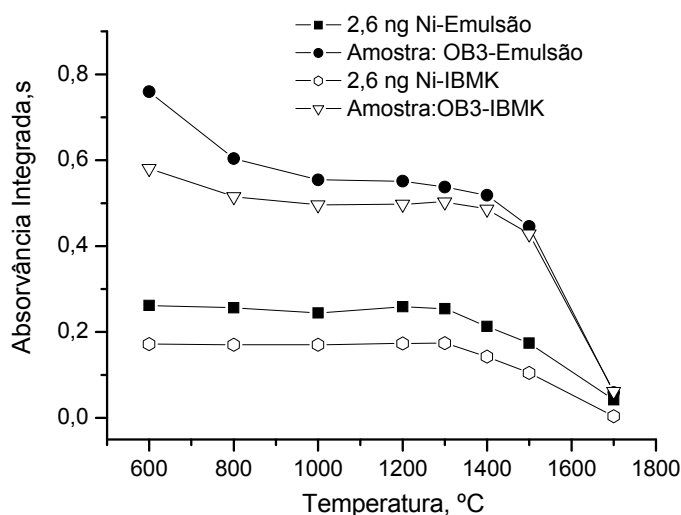
Portanto, o preparo adequado de amostras complexas e viscosas de óleo ainda é crítica. A fim de converter a amostra a uma forma que seja compatível com a instrumentação e que permita uma calibração mais fácil e eficiente, muitos procedimentos de preparo de amostra vêm sendo propostos para a análise de amostras de óleo.

Os métodos adotados pela ANP [69,70] para determinação de Ni, V, Fe e Na em amostras de petróleo consistem na queima da amostra a  $525 \pm 25$  °C e análise do resíduo após sua dissolução em ácido nítrico. No entanto, tal método, além de moroso, apresenta grande risco de contaminação e perdas durante a queima, se aplicado a elementos mais voláteis.

Alternativamente, as emulsões ou microemulsões de petróleo, em substituição à diluição com solventes, têm sido propostas para análise por GF AAS [48,66,88,89,90], ICP-MS [74,91], e ICP OES [84,92]. Essa técnica de preparo de amostra permite a substituição dos padrões organometálicos, que são instáveis e caros, por padrões aquosos para calibração. Em todos os trabalhos tem sido relatada melhor estabilidade para vários elementos em padrões e amostras emulsificados.

Recentemente, Santelli *et. al.* [90] propuseram um procedimento para determinação de vanádio não-volátil em condensados do petróleo, diesel e gasolina por GF AAS. As amostras foram preparadas em emulsão usando ácido nítrico concentrado, Triton X-100, amostras e água nas proporções de 1/1/2/6, respectivamente. O procedimento proposto teve êxito em seus resultados para as amostras investigadas, com recuperações entre 90-105%.

Nosso grupo de trabalho investigou detalhadamente a determinação de níquel e vanádio em petróleo usando a técnica de emulsão [48,88]. No primeiro trabalho foi observado que nas curvas de pirólise para Ni em amostra de petróleo ocorreu um leve declínio na absorvância integrada entre 600 °C e 1000 °C (Figura 3). Este efeito não foi considerado naquele momento, pois o fenômeno desaparecia a altas temperaturas, e verificou-se que acima de 1300 °C, o sinal analítico começa a se reduzir bruscamente indicando que acima dessa temperatura ocorria perda de níquel.

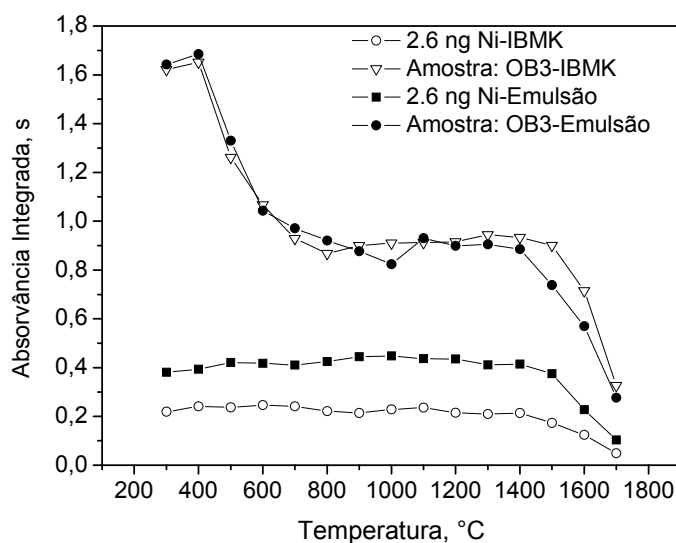


**Figura 3** – Curvas de temperatura de pirólise para níquel em amostra de petróleo e padrão em diferentes meios por GF AAS;  $T_a = 2400$  °C. Figura retirada da dissertação de mestrado de Damin [93].

Usando um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS GF AAS) foi descoberto que até 50% do níquel era perdido na etapa de pirólise a temperaturas acima de 400 °C, enquanto que o restante do níquel era estável até 1400 °C [48]. Baseado nesses dados e em dados da literatura [94] concluiu-se que complexos porfirínicos de níquel apolares eram perdidos, enquanto que os compostos não-porfirínicos altamente polares



ficavam retidos no tubo de grafite até 1400 °C. O comportamento das curvas observado na Figura 4 para níquel também foi mesmo apresentado nas curvas para o vanádio [88].



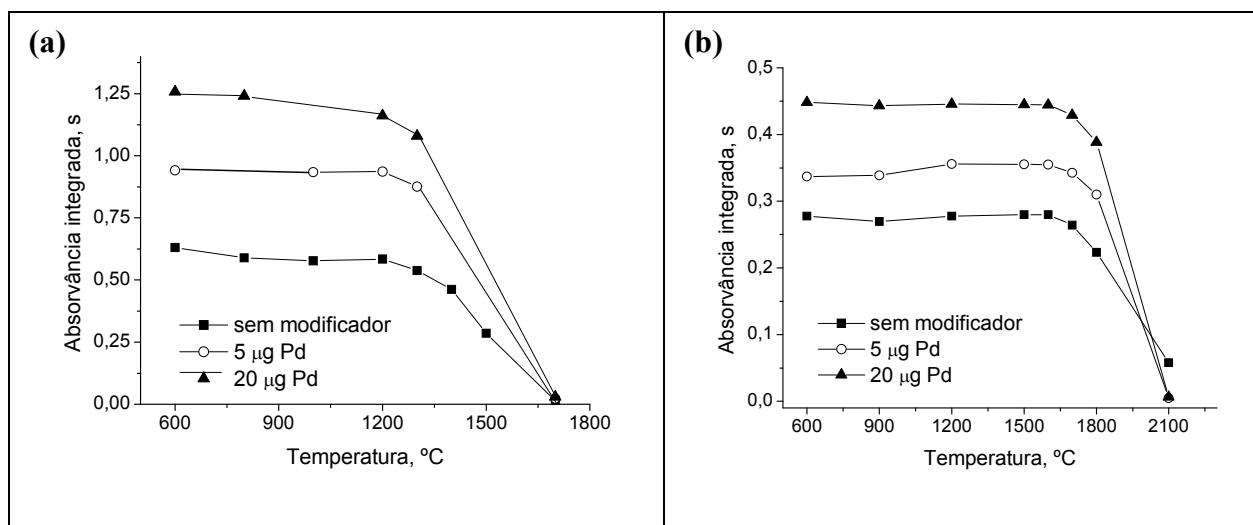
**Figura 4** – Curvas de temperatura de pirólise para níquel em amostra de petróleo e padrão em diferentes meios obtidas por HR-CS AAS (fornecida por Lepri) [95];  $T_a = 2400$  °C.

A altíssima capacidade de correção de fundo da HR-CS GF AAS permitiu o uso de temperaturas de pirólise tão baixas como 300 °C, mesmo com matrizes tão complexas como o petróleo. Assim sendo, níquel e vanádio total foram determinados usando uma temperatura de pirólise de 400 °C, e os compostos “termicamente estáveis” usando uma temperatura de pirólise de 800 – 1000 °C. A fração volátil foi calculada por diferença.

Para a aplicação desse método em GF AAS convencional, foi proposto o uso de paládio como modificador químico para estabilizar os compostos voláteis de níquel e vanádio [88]. Por esse método determinou-se níquel e vanádio total usando-se paládio e os compostos “termicamente estáveis” foram determinados sem modificador na mesma temperatura de pirólise, conforme apresentado na Figura 5.

As análises realizadas pelo nosso grupo em várias amostras de petróleo mostraram que as espécies de porfirinas voláteis em frações de petróleo estão entre 5 e 50% de níquel e vanádio total. As vantagens desses métodos é que um tipo de especiação foi realizado com um preparo de amostra relativamente simples e sem nenhuma pré-separação cromatográfica. Deve-se salientar que se a presença de compostos voláteis não for levada em consideração,

mesmo usando temperaturas de pirólise relativamente baixas, erros sistemáticos graves podem ocorrer.



**Figura 5** - Curvas de temperatura de pirólise para (a) níquel e (b) vanádio obtidas por GF AAS. Amostra: OB3 em emulsão (massa de amostra: 0,8 g); (a)  $T_a = 2400\text{ }^\circ\text{C}$ ; (b)  $T_a = 2650\text{ }^\circ\text{C}$ . Figuras retiradas da dissertação de mestrado de Damin [93].

Um aspecto que deve receber maior atenção quando se realiza a análise de especiação é o de manter as espécies de interesse na sua forma original durante o preparo da amostra. A condição de pré-tratamento mínimo deve ser aplicada de forma a se obter resultados exatos [96].

Os modificadores químicos são utilizados em AAS por diminuir as interferências e possibilitar aumento na temperatura de pirólise resultando em uma maior eliminação da matriz. Deve-se salientar que o uso de modificadores químicos é mais dirigido para elementos voláteis e a sua utilização para determinação de níquel e vanádio não é comum, pois estes elementos são bastante refratários, apresentando temperaturas de pirólise bastante elevadas. No entanto, o comportamento desses metais em amostras de petróleo foi diferente, como já foi discutido, tornando-se necessário o uso de paládio.

Outras formas de vanádio foram investigadas por outro autor [87], o qual usou paládio orgânico e uma mistura de iodo e cloreto de metiltriocilamônia (MTOACI) a fim de estudar o efeito do comportamento de várias formas de vanádio durante a análise por GF AAS. Os resultados confirmam o problema de volatilidade de compostos orgânicos de vanádio em

amostras de petróleo diluídas com solventes orgânicos. O autor cita que um tipo de especiação poderia ser realizado usando o método proposto pelo nosso grupo.

Alguns autores reportaram na literatura outro modificador químico, nitrato de magnésio, para determinação de vanádio com o objetivo de aumentar a sensibilidade analítica [97,98] e auxiliar na prevenção da formação de carbetos [99].

Luz *et al.* [100] propuseram o desenvolvimento de um método para determinação de vanádio em óleo diesel por GF AAS utilizando nitrato de magnésio como modificador para aumentar a sensibilidade do sistema. Nesse contexto, Bermejo-Barrera *et al.* [101] também utilizaram o modificador nitrato de magnésio para a determinação de vanádio em água de mar por GF AAS. Os autores verificaram um considerável aumento do sinal analítico do metal.

Uma diferente alternativa em GF AAS para determinação de analitos presentes em baixas concentrações em matrizes complexas é o emprego do atomizador com filtro de aquecimento transversal (THFA) desenvolvido pelo grupo do Dr. Dmitry A. Katskov [102,103,104]. O THFA apresenta várias vantagens para a análise de soluções orgânicas, tais como: *i*) a determinação de elementos voláteis torna-se possível sem a adição de modificadores químicos; *ii*) ocorre um aumento da sensibilidade e do limite de detecção que melhora de duas a três vezes, devido ao reduzido volume de absorção e também a possibilidade de injetar volumes grandes de amostra de até 100  $\mu\text{L}$ ; *iii*) e uma eficiente redução nas interferências não-espectrais e de fundo [105,106]. No entanto, esta técnica ainda não está comercialmente disponível.

Na literatura há poucos exemplos para o uso do THFA, e eles estão resumidos em uma recente revisão descrita por Katskov [107]. Esta técnica já foi empregada com sucesso em matrizes reconhecidamente complexas como combustível automotivo e óleos comestíveis.

Cabe salientar que o THFA ainda não foi aplicado para análise de amostras de petróleo. É óbvio que se esta técnica for aplicada a amostras de petróleo vai necessitar de algum preparo de amostra, como a diluição com solventes orgânicos ou emulsões. Contudo, poderia ser uma excelente alternativa para a determinação de elementos presentes em baixas concentrações no petróleo por GF AAS.

A possibilidade de se realizar a análise direta de petróleo por GF AAS é algo inovador, pois é um procedimento analítico que oferece inúmeras vantagens em relação aos métodos convencionais utilizados. Este método tem por principal objetivo aumentar o número de amostras analisadas por tempo e a confiabilidade dos resultados, além de reduzir o custo da

análise. É esperado que a SS-GF AAS possa ser utilizada com sucesso eliminando-se as possíveis dificuldades encontradas nos métodos de diluição com solventes orgânicos e digestão. Espera-se também uma melhora dos LD (s) em relação os métodos de emulsão e micro-emulsão, devido a não diluição das amostras.

O uso da SS-GF AAS para análise direta de petróleo foi proposta simultaneamente neste trabalho, para determinação de níquel e vanádio, e por Brandão e colaboradores para determinação de níquel [108], cobre, ferro e vanádio [109]. Recentemente, Dittert *et. al.* [49] descreveram um procedimento para determinação simultânea de cromo e ferro em amostras de petróleo sem nenhum preparo de amostras usando HR-CS AAS.

Assim, fazer uma investigação das principais dificuldades associadas à determinação de metais e metalóides em petróleo por SS-GF AAS, tais como erros de pesagem, calibração e uso de modificadores químicos merece atenção especial.

#### **2.4. DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS-TRAÇO EM CARNE *IN NATURA***

Desde 2004, o Brasil é considerado o maior exportador mundial de carne bovina e aves domésticas e o quarto em exportação de carne de porco. Em 2005, uma nova deflagração da doença de pé-e-boca (do inglês: “foot and mouth disease” - FMD), conhecida como febre aftosa, levou vários países a proibir importação de carnes das regiões afetadas pela doença. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) controla as condições sanitárias internacionais, buscando comprovar a ausência da febre aftosa nos países exportadores de carne. O Brasil, que tem atualmente o reconhecimento da OIE como área livre da doença, com vacinação em 15 estados brasileiros, permanece em um significativo lugar no mercado das carnes [110]. Tal otimismo é reforçado pelo esforço nacional na promoção da certificação sanitária [111]. Neste sentido, métodos exatos, rápidos e de baixo custo para a análise de carne são de grande importância, aumentando o número de análise de amostras por tempo, com maior confiabilidade.

A presença de elementos tóxicos nos tecidos e produtos de origem animal pode resultar tanto da ocorrência natural desses elementos no solo, quanto dos processos de contaminação industrial, descarte de resíduos e/ou insumos agrícolas. Essas substâncias possuem um grau de toxicidade bastante diversificado. Os elementos traço como As, Cd e Pb estão entre as substâncias tóxicas controladas em carne pelo Ministério da Agricultura do Brasil, que estabeleceu recentemente, em maio de 2009, novos níveis máximos de: arsênio

(1,00 mg kg<sup>-1</sup> de As em rim bovino e 2,00 mg kg<sup>-1</sup> de As em rim suíno), chumbo (0,50 mg kg<sup>-1</sup> de Pb em rim bovino, suíno e eqüino) e cádmio (0,20 mg kg<sup>-1</sup> de Cd em músculo eqüino e 1,00 mg kg<sup>-1</sup> de Cd em rim bovino e suíno). O controle de resíduos de metais em amostras de carne no âmbito do Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCR), além dos objetivos já citados, tem como propósito obter informações sobre os níveis médios regionais, dados estes que permitem localizar áreas de poluição ambiental [112].

A baixa concentração de chumbo e cádmio em amostras biológicas como a carne requer o uso de técnicas altamente sensíveis, tais como a GF AAS que permite determinações na faixa de µg kg<sup>-1</sup> [42]. A maioria dos métodos para determinação de elementos traço e ultratraço em carne, requerem uma prévia digestão da amostra, que envolve tratamento com ácidos concentrados em frascos abertos ou fechados [1,2]. Uma excelente alternativa para evitar os problemas associados à digestão é a análise direta ou via suspensão da carne por GF AAS.

Korn *et. al.* [113] recentemente reportaram uma revisão geral de recentes publicações a respeito de procedimentos de preparo de amostras para a determinação de metais em amostras de alimentos usando técnicas espectroanalíticas. Entre os métodos mais aplicados para o preparo de amostras de alimentos estão: a via úmida, usualmente com a adição de digestão ácida, preferencialmente com a assistência de microondas; suspensões, particularmente com a assistência de ultra-som, que reduz o consumo de ácidos e o tempo de preparo; e a análise direta de sólidos que esta ganhando importância no campo da análise de alimentos, pois oferece uma alta sensibilidade, evitando o uso de reagentes agressivos como ácidos minerais, tornando possível a análise de micro-amostras. Além disso, pode ser aplicada para uma análise rápida de *screening*, como por exemplo, carne *in natura*.

Para o preparo das suspensões de alimentos, contendo água e com alto teor de fibras, os procedimentos de homogeneização da amostra parecem ser rápidos e apropriados para amostras com elementos de fácil extração. No entanto, para alimentos com alto teor de gordura esses procedimentos não são adequados, pois dificultam uma redução efetiva do tamanho das partículas [114]. Portanto, a análise direta de tecidos biológicos está ainda combinada com alguma forma de pré-tratamento, principalmente por homogeneização e liofilização, particularmente para técnicas de suspensão [41], que precisam de materiais finamente triturados.

Fry *et. al.* [115,116,117] investigaram procedimentos de homogeneização para o preparo de suspensões de alimentos com diferentes homogeneizadores. Os autores reportaram que os resultados obtidos para Cu, Mn e Zn por F AAS foram concordantes com os valores certificados para fígado bovino. Além desses elementos também foram realizadas determinações de Na e K em amostras de sanduíches em forma de suspensão por espectrometria de emissão atômica por chama (F AES). [117]. No entanto, nesse trabalho foi realizada a análise somente com o sobrenadante resultante de uma centrifugação da suspensão. Embora a forma de análise seja interessante, esse procedimento não é usual no caso das suspensões, que são simplesmente homogeneizadas e analisadas imediatamente.

Lynch e Littlejohn [118] reportaram o uso de amostras de alimentos secas para o preparo das suspensões. Méndes *et. al.* [119] investigaram o uso de 3 sistemas de secagem (forno, liofilizador e forno de microondas) para o preparo de tecidos biológicos marinhos para a determinação de selênio. As amostras foram anteriormente homogeneizadas, secas e moídas. O tamanho das partículas obtidas em todos os processos foi  $< 100 \mu\text{m}$ , e estas foram usadas no preparo das suspensões. A maior extração em % do analito foi obtida com a secagem por forno, aquecimento a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  por 48 horas, que depois foi aplicado para todas as amostras.

Mokgalaka *et. al.* [120] desenvolveram um método para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Zn envolvendo a análise de amostras liofilizadas de fígado bovino em suspensão por ICP OES. Para isso, alíquotas das amostras liofilizadas foram preparadas em 2,0 M de ácido nítrico e a seguir sonicadas a fim de obter uma completa homogeneização das suspensões. Os resultados do método proposto foram comparados com amostras digeridas em forno de microondas e foram satisfatórios.

Baysal *et. al.* [121] investigaram uma nova técnica de pré-concentração/separação para analisar as suspensões de fígado bovino certificado, antes da determinação de chumbo por GF AAS. Para esse propósito, inicialmente, o chumbo foi coletado em dimetacrilato de etilenoglicol – ácido metacrílico (EGDMA-MA) (“do inglês: ethylene glycol dimethacrylate methacrylic acid copolymer”) e tratado com pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) (“do inglês: ammonium pyrrolidine dithiocarbamate”). Depois da separação da fase líquida, a suspensão do sorvente contendo o metal preconcentrado foi preparada e diretamente pipetada pelo amostrador automático e introduzida no tubo de grafite.

Afridi *et.al.* [122] desenvolveram 3 métodos de tratamento de amostras baseados em sistemas ultrasônicos: extração ácida em ultra-som com sonda, suspensão ácida em banho de

ultrassom, e pequena pseudo-digestão e sonicação em banho de ultrassom. Esses métodos foram comparados para determinação de Cd e Pb por GF AAS em amostras biológicas (sangue e cabelo), CRM (s) de cabelo humano (BCR 397) e fígado bovino (BCR 185R). Os melhores resultados foram obtidos com a pseudo-digestão em ultrassom.

Uma alternativa simples e rápida de pré-tratamento de amostra é o uso de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). O TMAH é uma base forte, solúvel em água e em solventes orgânicos, que sob suaves condições de aquecimento [123] ou sem aquecimento [124] usualmente solubiliza completamente tecidos de origem animal. Em geral, suspensões preparadas com TMAH são suficientemente homogêneas para produzir resultados satisfatórios. Em uma revisão feita por Nobrega *et. al.* [123] é discutida a literatura existente a respeito do uso de TMAH, aminas terciárias solúveis em água (CFA-C), e bases fortes para o preparo de amostra. A discussão enfatiza os analitos, amostras e efeitos nas condições das medidas. Isto evidentemente mostra que o emprego de um meio alcalino é uma boa alternativa para algumas tarefas analíticas e uma abordagem simples de preparo de amostra.

Kotulanová e Komárek [124] examinaram em detalhes o preparo da amostra desde a secagem até queima em forno mufla, queima em baixa pressão em plasma de oxigênio, digestão ácida em frascos fechados, solubilização com o TMAH e amostragem de suspensão de amostras de fígado animal. A comparação desses métodos para a determinação de cobre mostrou que todos podem ser aplicados para análise de tecido animal. A queima em forno mufla e a queima em baixa pressão de oxigênio (plasma) foram recomendados pelos autores para analisar pequenas massas de amostra de fígado, em torno de 10 mg.

Em relação a análise por suspensão a análise direta de amostras sólidas por GF AAS tem melhores limites de detecção por causa da ausência de diluição e mínimo risco de contaminação [13]. Conforme já discutido, a ausência da manipulação da amostra faz da SS-GF AAS ideal para uma análise rápida de *screening* e aplicações de rotina [3]. No entanto, a análise direta de tecidos biológicos, assim como a suspensão, está ainda combinada com alguma forma de pré-tratamento, principalmente por homogeneização e liofilização.

Nomura *et. al.* [7,125] analisaram uma amostra de fígado bovino investigando a secagem e o processo de moagem. Nesse trabalho os autores concluíram que esses processos influenciam na micro-homogeneidade da amostra, e observaram resultados diferentes para elementos diferentes.

Lücker *et. al.* publicaram vários trabalhos envolvendo a análise de tecidos animais pela técnica da análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com correção de sinal de fundo, baseado no efeito Zeeman. Os autores observaram que a distribuição de elementos traço em tecido animal é quase homogênea. Estes trabalhos foram aplicados a tecidos de fígado [126,127], e de rim [128], determinação de Pb em tecido de músculo contaminado por resíduos de armas de fogo [129] e Cd em músculo eqüino [130]. Lucker e Schuirer [131] investigaram as fontes de erros nas determinações por SS-ET AAS na análise direta de tecido animal *in natura* para propósito de *screening*. Eles desenvolveram um sistema de amostragem direta de sólidos automatizado e investigaram a amostragem em tecido animal sem tratamento, usando diferentes temperaturas e massa de amostra. No entanto, é necessário destacar que o equipamento usado por esses autores não está disponível no mercado para comercialização.

O uso da SS-GF AAS, discutido nesta revisão poderia ser empregado com sucesso para uma determinação rápida e exata de chumbo e cádmio em carne bovina *in natura* no âmbito do programa brasileiro de controle de resíduos em produtos de origem animal.



### 3. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como principal objetivo avaliar a aplicabilidade da técnica de SS-GF AAS para análise de amostras com alta viscosidade e com alto teor de umidade. Ênfase foi dada para amostras **de carne bovina *in natura*** visando a possibilidade de se fazer uma investigação preliminar (*screening*) de Cd e Pb em amostras de fígado, rim e músculo bovino *in natura*; e de **petróleo**, visando à viabilidade da determinação de elementos-traço (Ni, V e Pb). Os métodos são baseados na análise das amostras após introdução direta no forno de grafite (SS-GF AAS), sem nenhum tratamento prévio, apenas com uma simples homogeneização, ou na forma de suspensão para as amostras de carne analisadas por GF AAS. Para determinação de chumbo em petróleo, além da análise direta utilizaram-se também os métodos de emulsão e de digestão para comparação dos resultados. Para ambos os tipos de amostras, buscou-se o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, sensíveis e exatos, que possam ser aplicados rotineiramente na determinação direta de elementos-traço por GF AAS

Objetivos específicos investigados neste trabalho:

#### **Petróleo**

- Estudos de procedimentos para determinação direta de Ni, V e Pb em amostras de petróleo por GF AAS;
- Estudo de viabilidade do uso de modificadores químicos;
- Investigação da influência da massa de amostra de petróleo nos erros de pesagem na análise direta;
- Investigação do uso de padrões de referência inorgânicos em emulsão e aquosos para a calibração;
- Investigação do uso de emulsões em petróleo para determinação de Pb em THFA;
- Comparação entre os diferentes métodos de análise para a determinação de Pb em petróleo (emulsão em THFA ou SS), em termos de sensibilidade, precisão etc;
- Otimização e validação dos métodos desenvolvidos, usando-se materiais de referência certificados, digestão ácida ou por comparação dos resultados obtidos entre as metodologias analíticas propostas.

**Carne *in natura***

- Investigação da viabilidade do uso de modificadores químicos;
- Investigação de erros de amostragem e influência da massa de amostra de carne na análise direta de sólidos;
- Desenvolvimento de métodos para determinação de Cd e Pb em materiais de referência certificados de fígado e músculo bovino, diretamente na amostra sólida ou sob a forma de suspensão;
- Desenvolvimento de métodos para determinação de Cd e Pb em amostras de fígado e músculo bovino *in natura*, através dos métodos de análise direta de sólidos ou na forma de suspensão;
- Comparação entre os diferentes métodos de análise (após digestão, na forma de suspensão ou na forma sólida), em termos de sensibilidade, precisão, tempo de análise, etc;
- Otimização e validação dos métodos desenvolvidos, usando-se materiais de referência certificados e por comparação dos resultados com aqueles obtidos através dos métodos adotados pelos órgãos oficiais nacionais.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Equipamentos

#### 4.1.1. Espectrômetro de Absorção Atômica

Para a determinação de cádmio, chumbo, níquel e vanádio utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica AAS5EA (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha) com lâmpada de deutério como corretor de fundo. Para medida dos sinais de absorvância, foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco de cádmio, chumbo, níquel e vanádio (NARVA G. L. E, Berlim, Alemanha). Todas as medidas usando a análise direta de sólidos foram realizadas com tubos de grafite para sólido, sem o orifício de dosagem, piroliticamente recobertos com grafite e com aquecimento transversal (Analytik Jena Part No. 07-8130325, Analytik Jena AG, Alemanha). Para a análise de soluções e emulsões foram utilizados tubos de grafite pirolítico com plataforma integrada PIN (Analytik Jena Part No. 407-A81.025). Para as medidas usando as emulsões na determinação de chumbo em petróleo, foram utilizados tubos com filtro (forno filter - THFA) fabricados em TUT (Tshwane University of Technology, Pretoria, Africa do Sul), similares aos descritos por Katskov [107]. O espectrômetro está conectado ao computador IBM PC/AT. Utilizou-se como gás de purga argônio comercial, com 99,9% de pureza (White Martins Praxair, São Paulo, Brasil). As medidas dos sinais de absorvância foram baseadas em área de pico. Os parâmetros instrumentais utilizados estão apresentados na Tabela II.

**Tabela II** - Parâmetros instrumentais para determinação de cádmio, chumbo, níquel e vanádio.

Parâmetro	Carne		Petróleo		
	Chumbo	Cádmio	Níquel	Vanádio	Chumbo
Comprimento de onda (nm)	283,3	228,8	234,6	318,4	217,0
Corrente de lâmpada (mA)	4,5	4,0	6,0	6,0	6,0
Fenda espectral (nm)	0,5	0,5; 0,8*	0,5	0,8	0,5

\*Suspensão

Para a pesagem das amostras utilizou-se uma ultramicro-balança (Sartorius, Göttingen, Alemanha) com exatidão de 0,001 mg. Para a análise das amostras de carne *in natura* na forma de suspensão, as amostras foram pesadas diretamente em frascos do amostrador automático. Para a amostragem direta, as amostras de carne (com massa variando de 1,0 – 10 mg) e petróleo (com massa variando de 0,05 - 4,0 mg) foram pesadas em plataformas de grafite desenvolvidas para análise direta de sólidos - SS (Analytik Jena Part No. 407-152.023, Analytik Jena AG, Alemanha). Os valores das massas pesadas foram automaticamente transmitidos para o computador para calcular a “absorvância integrada normalizada” (absorvância integrada calculada para 1 mg de amostra) depois de cada medida. Essa normalização é comumente utilizada em SS-GF AAS para comparar os sinais, pois é praticamente impossível introduzir exatamente a mesma massa de amostra de 1 mg, ou sempre introduzir exatamente a mesma massa de amostra em uma série de medidas. A transferência das amostras para o atomizador foi realizada usando-se um módulo amostrador mecânico de sólidos (SSA5 Solid, Analytik Jena). Para a introdução de soluções no atomizador, utilizou-se um amostrador automático MPES (Analytik Jena).

Para a determinação de chumbo em petróleo usando forno PIN ou THFA as amostras foram preparadas em emulsões. Nesse caso, as massas de petróleo (cerca de 500 mg) foram pesadas diretamente em balões volumétricos de 10 mL. A técnica de calibração com padrões aquosos foi usada em todo o trabalho.

#### **4.1.2. Outros equipamentos**

As amostras de carne foram homogeneizadas em um liquidificador (Britania, Brasil). Uma estufa (De Leo, Brasil), foi usada para secagem das amostras de carne. Um moinho vibratório micro-mill modelo Pulverisette 0 (Fritsch, Alemanha), equipado com bolas de aço temperado foi usado para redução das partículas de carne pela combinação de impacto e fricção. Essas vibrações foram controladas a uma amplitude de 1 mm, com o tempo de 1 min.

Um bloco digestor (sistema aberto) modelo 324 A 242, Quimis, Brasil, operando a uma frequência de 60 Hz com uma potência de 2000 W, com tubos de ensaio feitos de vidro e capacidade para 50 mL, foi usado para digestão das amostras de carne. Para a digestão de petróleo foi usado um bloco digestor Modelo Te-015/1 (TECNAL, Brasil) com frascos de Teflon®, para conter 50 mL..

Um banho de Ultrassom da Unique-Thorton modelo USC-2850 (Thorton, São Paulo, Brasil) operado com a frequência de 37 kHz e potência de 120 watts, com controle de temperatura, foi usado para o preparo das emulsões de petróleo.

Um destilador de água feito de vidro modelo 534 (Fisatom, Brasil) acoplado a um sistema MilliQ-Plus (Millipore, Bedford, MA) foram utilizados para purificação da água. Um destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha) foi utilizado para destilação do ácido nítrico, abaixo do seu ponto de ebulição.

## **4.2. Limpeza do material de preparo e armazenagem de soluções**

Todas as soluções foram mantidas em frascos de polietileno, previamente lavados e descontaminados. A descontaminação foi realizada através da inserção dos frascos em um banho de  $\sim 3 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$  por pelo menos 24 horas. A seguir, os frascos foram retirados do banho e lavados no mínimo três vezes, com água destilada e deionizada. Toda a vidraria utilizada no preparo das soluções, também foi descontaminada seguindo-se o mesmo procedimento.

## **4.3. Reagentes e soluções**

Todas as soluções e amostras foram preparadas com reagente de grau analítico e com água purificada por um sistema MilliQ-Plus, resistividade específica-18  $\text{M}\Omega \text{ cm}$  a 25 °C acoplado a um destilador de água de vidro. O ácido nítrico concentrado (Merck, Alemanha) utilizado no preparo das soluções e digestão das amostras foi destilado em destilador de quartzo.

### **4.3.1. Petróleo**

Foram utilizadas soluções estoques de chumbo, níquel e vanádio ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) Titrisol® adquiridas da Merck. As soluções de referência foram preparadas pela diluição da solução estoque com a adição de  $0,014 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ . As emulsões padrão foram preparadas pela diluição da solução estoque com a adição de 1,00 mL de óleo mineral puro (BMOMS, High Purity Standards, Charleston, SC, USA), 1,00 mL de Xileno (Merck) e 100  $\mu\text{L}$  de Triton X-100 (Union Carbide). O modo de preparo foi otimizado usando uma abordagem multivariada, descrita em um trabalho anterior [88]. Todas as soluções de referência usadas no THFA foram

preparados em 10% de etanol para facilitar a introdução da amostra (menor tensão superficial).

Os modificadores químicos utilizados foram: uma solução estoque com 1000 mg L<sup>-1</sup> Pd em 5 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> e uma mistura de 0,05% (m/v) Pd + 0,03% (m/v) Mg + 0,05% (m/v) Triton X-100 (Pd e Mg como nitratos da Merck). Também foram utilizados como modificadores permanentes soluções estoques de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Ir ou Ru em 8% HCl, ambos da Merck.

Para a digestão das amostras de petróleo utilizaram-se: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-97% (m/m) e 14 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> (todos da Merck, Alemanha).

#### **4.3.2. Carne**

As soluções estoques de cádmio e chumbo (1000 mg L<sup>-1</sup>) foram Titrisol adquiridas da Merck. As soluções de trabalho foram preparadas a partir de diluições adequadas das soluções estoque em 0,014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>. Dois modificadores químicos diferentes foram investigados: 0,05% (m/v) Pd + 0,03% (m/v) Mg + 0,05% (m/v) Triton X-100 e 0,01% (m/v) Pd + 10% (m/v) NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> + 0,05% (m/v) Triton X-100 (Pd e Mg como nitratos da Merck e Triton X-100 da Union Carbide). Para a digestão das amostras de carne utilizaram-se: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v) e HNO<sub>3</sub> concentrado (ambos da Merck, Alemanha). Hidróxido de tetrametilamônia (C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>NOH, 91,15 g mol<sup>-1</sup>, Aldrich, Alemanha) 25% m/v foi usado no preparo das suspensões.

### **4.4. Materiais de referência e amostras**

#### **4.4.1. Petróleo**

Para avaliação da exatidão do método foi utilizado neste trabalho o material de referência certificado, NIST SRM 1634c Elementos Traço em Resíduo de Óleo Combustível (do “International Institute of Standards and Technology”, Gaithersburg, MD, USA).

Neste trabalho as amostras de petróleo analisadas (OB2, OB3 e OB4) foram cedidas pela REFAP-PETROBRAS (Esteio, RS) e a maior parte delas (OBA, OB5, OB6, OB7, OB8, OB10, OB11, OB12, OB13, OB15) pela PETROBRAS, provenientes da Bahia.

#### **4.4.2. Carne**

Os materiais de referência certificados que foram usados neste trabalho para desenvolvimento e validação do método foram: fígado bovino - NIST SRM 1577b (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburgh, MD, Canada) e músculo bovino - NBS SRM 8414 (National Bureau of Standards and Certificate of Analysis, Washington, USA). A amostra liofilizada de fígado bovino (LS), cedida por Nomura e Oliveira [125], foi usada como material de referência (RM) para validação do método. Esta amostra foi analisada por SS-GF AAS, e os valores obtidos foram  $0,240 \pm 0,018 \mu\text{g g}^{-1}$  de Pb e  $0,071 \pm 0,002 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd [125]. Essa amostra foi moída no moinho vibratório antes da análise por SS-GF AAS. As amostras de fígado e músculo analisadas neste trabalho, BL1, BL2 (fígado bovino), PL (fígado de porco) e GM, GM1 (músculo caprino) foram cedidas pelo Ministério da Agricultura, Porto Alegre/Brasil. Essas amostras foram inicialmente lavadas com água Milli-Q, cortadas e homogeneizadas em um liquidificador. Elas foram analisadas imediatamente ou congeladas a  $-10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  em sacos plásticos pequenos e limpos e descongeladas naturalmente antes da análise.

#### **4.5. Procedimentos analíticos empregados**

##### **4.5.1. Determinação de chumbo, níquel e vanádio em amostras de petróleo por GF AAS**

###### **4.5.1.1. Amostragem direta de sólidos - SS**

Para algumas amostras, uma pequena diminuição de peso foi observada durante a pesagem devido à volatilização. Para minimizar este efeito manteve-se a temperatura no laboratório em torno de  $20\text{-}25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Devido ao decréscimo dos valores de massa para as amostras de petróleo, a estratégia usada para pesagem das amostras foi de manter o primeiro peso, desconsiderando a perda de massa em relação ao tempo.

Quando se utilizou o modificador químico na determinação de níquel e vanádio, a solução de modificador contendo  $20 \mu\text{g}$  de paládio com ou sem Triton X-100 foi introduzido primeiramente na plataforma de grafite, com auxílio de uma micropipeta, e as duas etapas iniciais do programa de aquecimento (Tabela IV) foram executadas a fim de secar e condicionar o modificador. Em seguida o programa foi interrompido e após o resfriamento do forno a amostra foi pesada (massas  $\sim 0,050\text{-}4,000 \text{ mg}$  para Ni e  $\sim 0,060\text{-}0,900 \text{ mg}$  para V)

sobre o modificador e a plataforma foi novamente introduzida no tubo de grafite, e todo o programa mostrado na Tabela IV foi executado.

Na determinação de chumbo foi usada uma mistura de modificadores químicos Pd/Mg/Triton X-100. Inicialmente a amostra foi pesada na plataforma de grafite (massas ~ 0,500-3,000 mg) e 20  $\mu\text{L}$  da solução de modificadores foi pipetada sobre a amostra com o auxílio de uma micropipeta, correspondendo a 10  $\mu\text{g}$  Pd e 6  $\mu\text{g}$  Mg, e a seguir o programa de aquecimento apresentado na Tabela V foi executado.

Para as medidas com modificador permanente, as plataformas de grafite foram tratadas pela pipetagem de 40  $\mu\text{L}$  de uma solução padrão de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de Ir ou Ru repetidas 10 vezes. A plataforma foi submetida, após cada injeção, ao seguinte programa de aquecimento: 130 °C/40 s, 160 °C/50 s, 1000 °C/25 s e 1400 °C/5 s. Depois do último tratamento, quando o total de 400  $\mu\text{g}$  de Ir ou Ru foi aplicado, a plataforma foi aquecida a 2000 °C por 5 s.

A homogeneidade das amostras também foi investigada. Para este propósito as amostras foram aquecidas a 40 °C em um banho com água e vigorosamente agitadas com um bastão de vidro antes da análise.

A técnica de curva analítica usando soluções de referência aquosas foi utilizada para maioria das determinações. Calibrações usando emulsões óleo-em-água e pela pesagem de diferentes massas de um material de referência adequado foram também investigadas para determinação de níquel e vanádio, sob as mesmas condições. Para a determinação de chumbo a calibração usando emulsão óleo-em-água e padrões aquosos foi investigada a fim de comparar os procedimentos desenvolvidos por SS e THFA.

O material de referência e as amostras de petróleo foram analisados pesando pelo menos seis replicatas de cada um.

#### **4.5.1.2. Análise das emulsões de petróleo (óleo-em-água) usando THFA ou plataforma PIN**

Para a determinação de chumbo em petróleo usando o THFA ou plataforma utilizou-se a técnica de emulsões para o preparo das amostras. As emulsões foram preparadas pela pesagem de aproximadamente 0,5 g de amostra de petróleo em triplicata diretamente em balões volumétricos de vidro borossilicato (10 mL), seguida da adição de 1,00 mL de Xileno e 100  $\mu\text{L}$  de Triton X-100, sendo finalmente aferido o volume com água. Este modo de preparo



foi otimizado usando uma abordagem multivariada, descrita em um trabalho anterior [88]. Um volume de 30  $\mu\text{L}$  de amostra em emulsão foi introduzido no THFA ou PIN, correspondendo em torno de 1,5 mg de amostra, juntamente com a solução de modificadores contendo 10  $\mu\text{L}$  de Pd/Mg, correspondendo a 5  $\mu\text{g}$  Pd e 3  $\mu\text{g}$  Mg. Para as medidas com PIN, 10  $\mu\text{L}$  de etanol foram introduzidos no tubo de grafite juntamente com a emulsão a fim de evitar formação de espuma. Neste caso, a solução de modificador foi injetada no tubo de grafite e secou-se antes do etanol e emulsão serem introduzidos. Os modificadores permanentes não foram investigados nas análises das emulsões.

A homogeneização das emulsões foi realizada por agitação manual com uma pipeta Pasteur antes das emulsões serem coletadas pelo capilar do amostrador automático. Após a introdução no atomizador a amostra era submetida ao programa de aquecimento que será descrito posteriormente (Tabela V). A estabilidade do analito em emulsão foi avaliada pelas medidas da absorvância integrada de chumbo em uma amostra de petróleo (OB3) e um padrão (1,0 ng) pelo período de 24 horas; e não foi observada nenhuma alteração no sinal analítico durante este período de tempo.

Os volumes usados para cada técnica estão descritos na Tabela III.

**Tabela III** - Volumes usados nas diferentes técnicas.

<b>Volume (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>SS</b>	<b>PIN<sup>a</sup></b>	<b>THFA</b>
<b>Amostra e/ou padrão</b>	10	30	30
<b>Modificador<sup>b</sup></b>	20	10	10

<sup>a</sup> 10  $\mu\text{L}$  etanol foi usado somente nas emulsões e PIN.

<sup>b</sup> 0,05% Pd + 0,03 % Mg + 0,05% Triton X-100.

#### **4.5.1.3. Recuperação de chumbo em amostras de petróleo**

Com o objetivo de verificar possíveis efeitos de matriz na determinação de chumbo em petróleo, foi realizado um estudo de recuperação do analito, com padrões aquosos, usando duas amostras de petróleo (OB11 e OB12). Como é difícil homogeneizar a amostra de petróleo após a adição de um padrão mesmo utilizando um padrão em meio orgânico, os testes de recuperação em SS-GF AAS foram realizados de a maneira descrita a seguir. Inicialmente foi adicionado na plataforma de grafite 20  $\mu\text{L}$  da solução de modificador, com o

auxílio de uma micropipeta, e após eram submetidos ao programa de aquecimento (Tabela V), que era interrompido quando atingisse 80 segundos, uma vez que esse tempo era suficiente para secar o modificador. Após seco o modificador, a amostra foi pesada na plataforma e adicionou-se sobre a amostra, com o auxílio de uma micropipeta, 10  $\mu\text{L}$  de solução de um padrão aquoso ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Pb) e reiniciava-se o programa de aquecimento (Tabela V).

Para os testes de recuperação usando o THFA as amostras em emulsão foram preparadas da mesma maneira como está descrito no item 3.5.1.2., com a adição de 10  $\mu\text{L}$  de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Pb, padrão aquoso. Um volume de 30  $\mu\text{L}$  de uma emulsão fortificada com o padrão foi injetada no THFA juntamente com 10  $\mu\text{L}$  da solução de modificador químico (Pd/Mg/Triton X-100), e após eram submetidos ao programa de aquecimento.

#### **4.5.1.4. Digestão das amostras de petróleo**

As digestões de amostras de petróleo foram realizadas com o objetivo de validar os procedimentos propostos para a determinação de chumbo. O método usado nesse trabalho foi baseado em um procedimento descrito por Amorin e colaboradores [132]. As amostras de petróleo, em torno de 0,25 g, foram pesadas em frascos de PTFE (politetrafluoretileno) abertos. Após, foram adicionados 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e levou-se ao aquecimento a  $200 \pm 10$  °C em bloco digestor por 60 min. Na continuidade da digestão, 2,5 mL de ácido nítrico concentrado foi adicionado gota a gota para evitar formação de espuma. Depois a mistura foi mantida em temperatura ambiente durante uma noite. A mistura foi aquecida novamente a  $200 \pm 10$  °C por 2 horas, seguida da adição de mais 1,0 mL de ácido nítrico concentrado e após foi mantida mais 2 horas foi mantida no bloco digestor, sempre tendo-se o cuidado de não secar a mistura. Após essa etapa, os frascos foram retirados do bloco digestor e deixados resfriar a temperatura ambiente ( $\sim 24$  °C) e a seguir 2,5 mL de 30% (v/v) peróxido de hidrogênio foram adicionados para completar a digestão. O conteúdo, aproximadamente 3,0 mL, foi resfriado a temperatura ambiente e transferido quantitativamente para o frasco volumétrico e diluído a um volume final de 10 mL com água DDW, para posterior análise. Todas as digestões foram realizadas em duplicata e para as medidas foram usados tubos de grafite com plataforma PIN.

#### 4.5.1.5. Programa de aquecimento

Os programas de aquecimento utilizados para a determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo utilizando SS-GF AAS encontram-se descritos na Tabela IV. Para a determinação de chumbo em petróleo pelas diferentes técnicas, SS-GF AAS, THFA e PIN, os programas de aquecimento utilizados estão apresentados na Tabela V. As temperaturas de pirólise foram determinadas através do procedimento descrito por Welz e Sperling [42].

**Tabela IV** - Programas de aquecimento para a determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo, utilizando SS-GF AAS.

Etapa <sup>a</sup>	Níquel	Vanádio
Secagem 1: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	150; 10; 50	150; 10; 50
Secagem 2: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	300; 5; 30	300; 5; 30
Pirólise: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	1400; 100; 20	1400; 100; 40
Atomização: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2400, 1500; 5	2600; 1500; 9
Limpeza: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2600; 100; 4	2600; 100; 4

<sup>a</sup> Gás de Purga: Argônio (2 L min<sup>-1</sup>) em todas as etapas, exceto na atomização, quando o gás é interrompido.

**Tabela V** - Programa de aquecimento para a determinação de chumbo em petróleo, utilizando SS-GF AAS, THFA e PIN por GF AAS.

Etapa <sup>a</sup>	SS-GF AAS	THFA	PIN
Secagem 1: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	150; 10; 50	100 <sup>b</sup> ; 15; 10	60; 5; 20
Secagem 2: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	300; 5; 30	110; 10; 15	80; 10; 20
Secagem 3: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	-	-	90; 5; 30
Secagem 4: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	-	-	100; 5; 15
Secagem 5: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	-	-	180; 4; 10
Pirólise: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	1100; 100; 40	1000; 100; 30	900; 100; 30
Atomização: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2000, FP <sup>c</sup> ; 6	2000; FP <sup>c</sup> ; 6	2000; FP <sup>c</sup> ; 6
Limpeza: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2400; 1000; 4	2300; 1000; 4	2300; 1000; 4

<sup>a</sup> Gás de Purga: argônio (2 L min<sup>-1</sup>) em todas as etapas, exceto na atomização, quando o gás é interrompido.

<sup>b</sup> Injeção da amostra no THFA.

<sup>c</sup> FP = Potência máxima (do inglês: “full Power”).

## **4.5.2. Determinação de cádmio e chumbo em carne *in natura* usando GF AAS**

### **4.5.2.1 Digestão das amostras de carne *in natura***

O método para digestão foi o mesmo usado pelo Ministério da Agricultura /Brasil (Nº 400/03) para a determinação de Pb, Cu, Zn, Cd, Fe, Ni, Co e Mn em músculo, fígado e rim [133]. Em torno de 2 g de amostras de fígado ou músculo *in natura*, depois de moídas em um liquidificador, foram pesadas em triplicata diretamente em tubos de ensaio de 50 mL; 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado foram adicionados e o bloco digestor foi aquecido a 90 °C por uma hora. Os frascos foram agitados suavemente manualmente para evitar formação de espuma. Depois de resfriar durante toda a noite, 2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram adicionados a mistura e em seguida aquecida a 90 °C por uma hora. A digestão se completou quando toda a gordura da carne foi dissolvida. Depois de frio, o volume foi completado a 15 mL com água para subsequente análise. As amostras digeridas foram analisadas em triplicata pela introdução de 10 µL de cada amostra digerida no tubo de grafite e submetida ao programa de aquecimento (Tabela VI). A técnica de curva analítica foi usada, introduzindo 10 µL dos padrões aquosos no atomizador. Para as medidas com os padrões e amostras digeridas o modificador foi introduzido juntamente (20 µL) pelo amostrador automático. A concentração do analito foi calculada e expressa em µg por g da substância *in natura* (µg g<sup>-1</sup> *in natura*).

### **4.5.2.2. Amostragem direta de sólidos - SS**

#### **4.5.2.2.1. Amostras *in natura***

As massas de amostras homogeneizadas possíveis de serem pesadas variaram entre 0,1 e 10 mg, dependendo da concentração do analito, foram pesadas diretamente nas plataformas de grafite e transferidas para o forno de grafite, como descrito anteriormente. Assim como para as amostras de petróleo, usou-se a estratégia de considerar o primeiro peso. Cada amostra foi pesada e analisada 10 vezes. Como feito para as amostras digeridas, a concentração do analito foi calculada em µg por g da substância *in natura* (µg g<sup>-1</sup> *in natura*).

#### **4.5.2.2.2. Amostras secas, CRM (s) e amostra liofilizada**

A fim de avaliar os erros na pesagem, as amostras de carne *in natura* foram secas em estufa a 60 °C, até peso constante para eliminar a umidade. Todas as amostras foram secas em triplicata em copos de Becker. Em torno de 1 g de amostras secas de carne foram moídas em moinho vibratório com bolas de aço temperado. Depois as amostras foram transferidas para os

frascos de estocagem e mantidas em um dessecador. O tubo de moagem e a bola do moinho vibratório foram lavados depois de cada uso, para eliminar possíveis contaminações. Esse ciclo foi realizado em triplicata para cada amostra. Os CRM (s) foram analisados diretamente e a amostra liofilizada foi moída no moinho vibratório antes da análise.

Quando se utilizou modificador químico, a solução do modificador foi introduzida com o auxílio de uma micropipeta automática sobre a amostra (somente para massas menores de 3 mg) na plataforma de grafite, e o programa de aquecimento, que será descrito posteriormente, (Tabela VI) foi executado. No entanto, quando se utilizaram massas maiores de 3 mg, ocorreu um espirramento durante a execução do programa de aquecimento, provavelmente por causa do alto teor de água. Devido a isto, foi necessário secar o modificador antes da introdução da amostra sobre a plataforma. Para isso, o modificador foi adicionado a plataforma e submetido ao programa de aquecimento (Tabela VI), que era interrompido após 80s, uma vez que essa etapa era suficiente para secar o modificador. Após seco o modificador, pesava-se a amostra e reiniciava-se o programa de aquecimento. A calibração foi feita utilizando a técnica de calibração com padrões aquosos.

#### **4.5.2.3 Suspensões de carne *in natura* em Hidróxido tetrametilamônio (TMAH)**

As amostras de carne *in natura* ou CRM (s) foram pesadas (entre 20-40 mg) em triplicatas, diretamente nos copos do amostrador automático do espectrômetro. Após a pesagem foram adicionados 150  $\mu\text{L}$  de água, e a solução foi agitada com o auxílio de uma micropipeta. A seguir foram adicionados 200-400  $\mu\text{L}$  de uma solução de TMAH 25% (m/v), e novamente a suspensão foi agitada. Finalmente a suspensão foi completada com 350  $\mu\text{L}$  de água e novamente agitada com uma micropipeta imediatamente antes da análise. A solução do branco foi preparada da mesma maneira: 150  $\mu\text{L}$  de água, mais a adição de 200-400  $\mu\text{L}$  de 25% (m/v) TMAH e completou-se com 350  $\mu\text{L}$  de água, sendo agitada a seguir. As amostras de carne *in natura* em suspensão foram analisadas pelo menos seis vezes pela introdução de 10  $\mu\text{L}$  de cada suspensão no atomizador. As suspensões de carne *in natura* obtidas com este método de preparo foram homogeneizadas sem necessidade de agitação antes de cada análise. No entanto, foram observadas sedimentações das suspensões de amostras liofilizadas (CRM (S) e RM), requerendo homogeneização antes de cada análise. Neste caso, as suspensões foram agitadas usando uma micropipeta, rapidamente antes da análise. A solução do modificador Pd/Mg/Triton X-100 (20  $\mu\text{L}$ ) foi injetado no tubo de grafite sobre a suspensão já adicionada. Todas as determinações foram realizadas usando a técnica de calibração com padrões aquosos.

### Otimização da suspensão

A otimização do preparo da suspensão foi realizada usando o planejamento fatorial de nível três; as variáveis envolvidas foram massa de amostra (em um intervalo de 20-40 mg) e volume de TMAH (variando de 200-400  $\mu\text{L}$ ). As medidas experimentais foram obtidas com um volume de 10  $\mu\text{L}$  de amostra de carne *in natura* em suspensão, e o programa de aquecimento utilizado está apresentado na Tabela VI. Um planejamento fatorial de nível três foi utilizado com a intenção de determinar as condições críticas do método e foi realizado em ordem aleatória. A resposta analítica foi a absorvância integrada (área do pico) e após a análise foi transformada em concentração. Os dados experimentais foram processados usando o programa STATISTICA 6.0.

#### 4.5.2.4. Programa de aquecimento

Os programas de aquecimento utilizados para a determinação de cádmio e chumbo em carne por GF AAS usando os diferentes métodos propostos encontram-se descritos na Tabela VI.

**Tabela VI** - Programas de aquecimento para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de carne por GF AAS usando a análise direta de sólidos (SS), a técnica de suspensão e a de digestão.

Programa do forno de grafite <sup>a</sup>	Técnica		
	SS	Suspensão	Digestão
Secagem 1: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	90; 15; 20	70; 10; 20	70; 10; 20
Secagem 2: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	150; 15; 20	100; 5; 60	100; 5; 60
Secagem 3: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	300; 15; 30	-	-
Pirólise: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	900 <sup>b,c</sup> ou 1000 <sup>d</sup> ; 100; 35	700 <sup>c</sup> ou 800 <sup>d</sup> ; 100; 35	900 <sup>b,c</sup> ou 1000 <sup>d</sup> ; 100; 35
Atomização: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2000; FP <sup>e</sup> ; 4	2000; FP <sup>e</sup> ; 4	2000; FP <sup>e</sup> ; 4
Limpeza: °C; rampa/ °C s <sup>-1</sup> ; patamar/s	2400; 1000; 4	2400; 1000; 4	2400; 1000; 4

<sup>a</sup> Gás de Purga: argônio (2 L min<sup>-1</sup>) em todas as etapas, exceto na atomização, quando o gás é interrompido.

<sup>b</sup> Pb: Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100.

<sup>c</sup> Cd: Pd/Mg/Triton X-100.

<sup>d</sup> Pb: Pd/Mg/Triton X-100.

<sup>e</sup> FP = Potência máxima (do inglês: “full Power”).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta parte do trabalho serão apresentados e discutidos os resultados relativos aos estudos da viabilidade do uso das técnicas de: (i) SS-GF AAS para determinação direta de Ni, V e Pb; e (ii) método de emulsão usando forno PIN ou THFA por GF AAS para determinação de Pb. Serão apresentados os resultados da digestão de petróleo para determinação de Pb usando forno PIN em GF AAS, realizada para validação dos métodos desenvolvidos. Dentro destes tópicos serão apresentados os estudos sobre o uso de modificadores químicos, investigação da influência da massa de amostra nos erros de pesagem na análise direta (decorrentes da volatilidade do material pesado), investigação do uso de um CRM orgânico (Resíduo de Óleo Combustível) e padrões inorgânicos para a calibração.

Serão também apresentados e discutidos os resultados obtidos com os métodos desenvolvidos para determinação de Cd e Pb, em CRM (s) (fígado e músculo bovino) e amostras de carne *in natura* (fígado bovino, fígado de porco e músculo caprino), com amostragem direta ou sob a forma de suspensão por GF AAS. Também serão apresentados os resultados obtidos com a digestão, adotado pelo MAPA, que foi o método de comparação empregado para avaliar a exatidão do método proposto.

Serão discutidas as vantagens e desvantagem entre os diferentes métodos de análise estudados, em termos de sensibilidade, precisão, exatidão, entre outros.

### 5.1. DETERMINAÇÃO DE NÍQUEL E VANÁDIO EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR SS-GF AAS

#### 5.1.1. Programa de aquecimento e modificadores

Para o estabelecimento dos parâmetros instrumentais como temperatura, tempo, taxa de aquecimento, vazão do gás de purga, usou-se a amostra de petróleo OB3. Essa amostra foi escolhida, devido aos seguintes critérios: apresentava viscosidade intermediária em relação às outras amostras e estava em uma faixa de concentração de níquel intermediária. Outro fator importante, é que essa amostra (OB3) já foi analisada em trabalhos anteriores [88]. Obviamente, era preferível utilizar um CRM a uma amostra não certificada, no entanto, tínhamos apenas um CRM disponível, elementos traço em resíduo de óleo combustível, SRM

1634c do NIST, o qual não era exatamente uma amostra de petróleo e por isso não foi considerado tão representativo para o estabelecimento dos parâmetros experimentais.

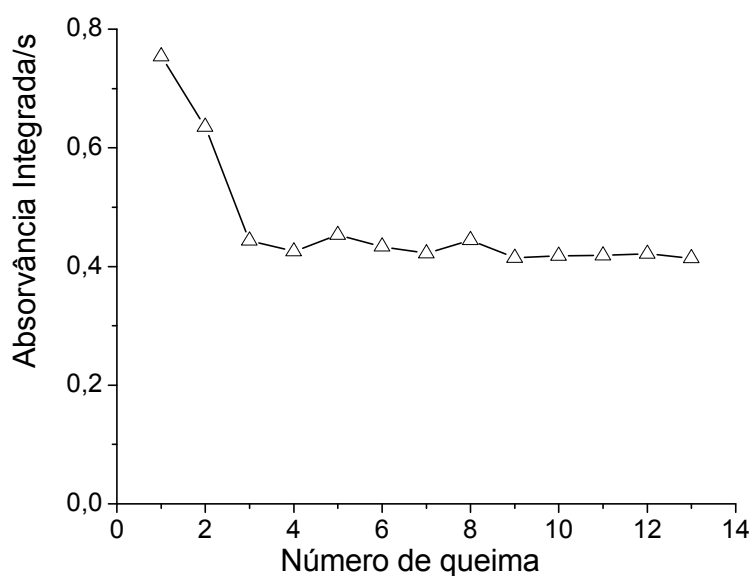
Neste trabalho, foram investigadas amostras de petróleo “leves”, que são líquidos ou com viscosidade relativamente baixa, amostras de petróleo com viscosidade intermediária e amostras de petróleo “pesado”, que são altamente viscosas ou quase sólidas. Portanto, uma atenção especial ao programa de aquecimento deve ser requerida para análise de amostras de petróleo. Antes da etapa de pirólise do programa de aquecimento a ser investigado, foi necessário otimizar a “etapa de secagem”. Esta etapa é necessária quando soluções aquosas são utilizadas, podendo ser omitida na análise de amostras sólidas. Para o petróleo, a fim de alcançar uma boa e completa remoção de todos os componentes voláteis em até 10 mg de amostra, foi necessário aplicar duas etapas de secagem com temperaturas relativamente altas (150 e 300 °C), rampas com taxas de aquecimento lentas e tempos longos, como pode ser observado na Tabela IV.

Perdas de compostos voláteis de níquel e vanádio em petróleo a temperaturas de pirólise acima de 400 °C tem sido observada em trabalhos anteriores do nosso grupo [48,134]. Paládio, depositado na plataforma e seco antes da introdução da amostra de petróleo emulsificada, foi utilizado para impedir de forma eficaz as perdas de níquel e vanádio a baixas temperaturas [88]. A realização da mesma análise com ou sem a adição de paládio, tornou possível fazer uma diferenciação na determinação de compostos voláteis e não voláteis do analito em amostras de petróleo [88]. Obviamente, a injeção de uma solução de modificador e o pré-tratamento térmico no tubo de grafite antes da introdução de cada amostra é uma complicação no procedimento analítico, e o uso de um modificador permanente ofereceria claras vantagens. Por esta razão, irídio e rutênio, metais do grupo da platina com altos pontos de fusão (além do ósmio, que não foi considerado devido a sua extrema volatilidade e toxicidade dos seus tetróxidos), foram investigados neste trabalho como modificadores permanentes, além do paládio, adicionado de modo convencional.

Investigou-se inicialmente o uso de rutênio (400 µg) como modificador permanente. No entanto, observou-se que o sinal do níquel nos padrões aquosos e em uma amostra de petróleo (OB3) foi reduzido em torno de 25% quando comparado ao sinal obtido com paládio (modificador convencional), e os perfis de absorvância mostraram uma enorme irregularidade, mesmo quando foram utilizadas altas temperaturas de atomização. Portanto, este modificador não foi mais investigado depois destes experimentos.



O uso de irídio (400  $\mu\text{g}$ ) como modificador permanente mostrou-se mais adequado do que o rutênio, pelo menos quando os padrões aquosos foram analisados observou-se a mesma sensibilidade obtida com paládio (e sem paládio). No entanto, quando uma amostra de petróleo (OB3) foi analisada, foi observada uma rápida queda na sensibilidade, em torno de 40%, nos três primeiros ciclos de atomização, como pode ser observada na Figura 6. Após esses três ciclos a sensibilidade permaneceu estável a um nível mais baixo. Este fenômeno será discutido mais adiante.



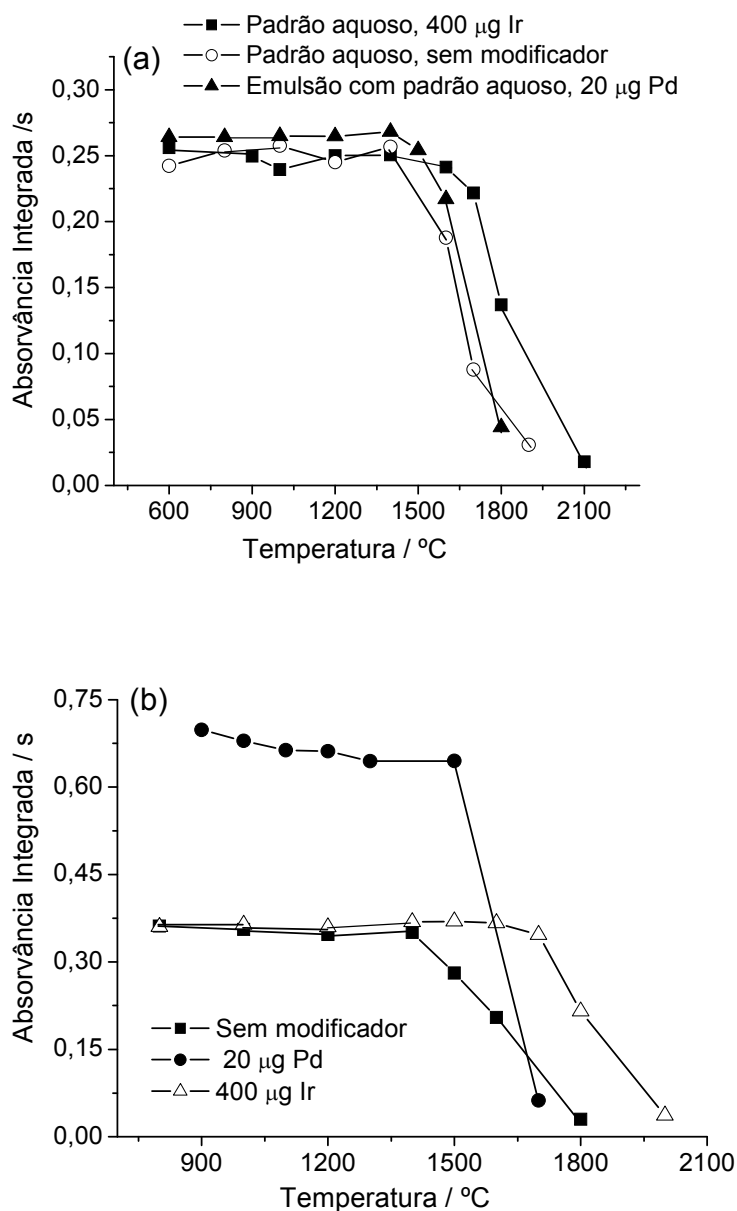
**Figura 6** - Sinais de absorvância integrada obtidos para níquel em petróleo (OB3) em 13 ciclos consecutivos de atomização usando uma plataforma tratada com 400  $\mu\text{g}$  Ir; Os dados para a amostra de petróleo OB3 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,0 mg de amostra;  $T_p = 1400\text{ }^\circ\text{C}$  e  $T_a = 2400\text{ }^\circ\text{C}$ .

O uso de paládio foi proposto como modificador convencional para estabilizar os compostos voláteis de níquel e vanádio, apresentados em trabalhos anteriores, utilizando a amostra de petróleo em emulsão [88]. Por esse método determinou-se níquel e vanádio total usando-se paládio e os compostos “termicamente estáveis” foram determinados sem modificador na mesma temperatura de pirólise. Neste trabalho, quando se utilizou o modificador convencional na determinação de níquel e vanádio, a solução de modificador, contendo 20  $\mu\text{g}$  de Paládio com ou sem Triton X-100, foi introduzida primeiramente na plataforma de grafite, com auxílio de uma micropipeta, e as duas etapas iniciais do programa

de aquecimento (Tabela IV) foram executadas a fim de secar e condicionar o modificador. Em seguida o programa foi interrompido, e após o forno esfriar, a amostra foi pesada sobre o modificador e a plataforma foi novamente introduzida no tubo de grafite, e todo o programa mostrado na Tabela IV foi executado.

Foram realizadas curvas de temperatura de pirólise para os padrões de níquel aquosos e em emulsão e para uma amostra de petróleo: sem o uso de modificador, com a adição de 20  $\mu\text{L}$  de solução 0,1% (m/v) de paládio (20  $\mu\text{g}$  Pd) e com irídio (400  $\mu\text{g}$  Ir) como modificador permanente. As curvas de temperatura de pirólises para 2 ng de níquel em padrões aquosos e em emulsão estão mostradas na Figura 7a, e para a amostra de petróleo sob várias condições estão apresentadas na Figura 7b. Os sinais de absorvância integrada obtidos para o petróleo foram “normalizados” para 1 mg de amostra. Nem todas as curvas de pirólises estão mostradas na Figura 7a, mas essencialmente a mesma sensibilidade foi obtida para padrões aquosos e em emulsões, sem modificador e na presença dos modificadores (paládio ou irídio). O mesmo máximo de temperatura de pirólise (1400 °C) foi encontrado para padrões de níquel aquoso e em emulsão sem modificador e com paládio como modificador, enquanto que uma temperatura de pirólise ligeiramente superior (1600 °C) foi obtida na presença de irídio. No entanto, foi observada uma significativa diferença no comportamento do níquel na amostra de petróleo, como mostra a Figura 7b. Em concordância com os trabalhos anteriores [88] há uma significativa diferença na sensibilidade para níquel na presença e ausência de paládio, o que mostra a eficácia deste modificador na prevenção de perdas de compostos voláteis, mais conhecidos como complexos porfirínicos de níquel [94], enquanto que o sinal menor obtido sem modificador é atribuído aos compostos termicamente estáveis de níquel.

A curva de temperatura de pirólise com 400  $\mu\text{g}$  de irídio como modificador permanente (obtida depois dos resultados apresentados na Figura 6 foi idêntica aos resultados obtidos sem modificador, exceto pelo fato que uma maior temperatura de pirólise (1600 °C) pode ser observada. Estas constatações, juntamente com os dados mostradas na Figura 6, sugerem fortemente que o irídio estabiliza compostos de níquel voláteis somente nas primeiras determinações feitas no mesmo tubo de grafite. A razão que se supõe é que deve estar ocorrendo uma interação do níquel, que é bem conhecido como envenenador de catalisadores, com irídio, bloqueando os sítios ativos na superfície do grafite, que são responsáveis pela prevenção das perdas de complexos porfirínicos voláteis de níquel.

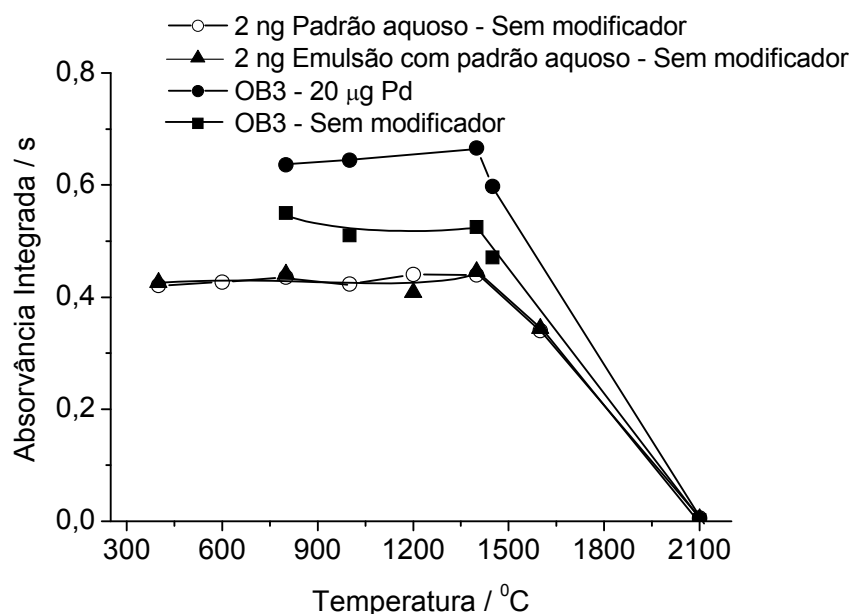


**Figura 7** - Curvas de temperatura de pirólise de níquel. **(a)** 2 ng de padrão; **(b)** amostra de petróleo (OB3); Os dados para a amostra de petróleo OB3 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,0 mg de amostra;  $T_a = 2400$  °C.

Baseando-se nas experiências anteriores a idéia do uso de modificadores permanentes para esta aplicação foi abandonada, e o uso de 20 µg de paládio, aplicado antes de cada determinação foi considerado a melhor escolha, pois com esse modificador o sinal do analito começa a diminuir somente acima de 1400 °C . Portanto, somente este modificador (20 µg de paládio) foi investigado para a determinação de vanádio em petróleo. As curvas de pirólise

para vanádio estão apresentadas na Figura 8. Observa-se que as curvas de temperatura de pirólise para a amostra de petróleo OB3 sem e com adição de 20  $\mu\text{g}$  de paládio mostram o mesmo comportamento do níquel, comprovando também a eficiência deste modificador na prevenção de perdas de vanádio em amostras de petróleo em baixas temperaturas. A melhor temperatura para vanádio em todas as situações (padrão aquoso, vanádio estável e total em petróleo) foi em 1400  $^{\circ}\text{C}$ . Assim, a temperatura de pirólise de 1400  $^{\circ}\text{C}$  foi escolhida para determinação de níquel e vanádio em todos os experimentos posteriormente realizados.

Outras formas de vanádio foram investigadas por Kowalewska *et. al.* [87], usando paládio orgânico e uma mistura de iodo e cloreto de metiltriocetilamônia (MTOACI) como modificador químico a fim de estudar o comportamento de várias formas de vanádio durante a análise por GF AAS. O autor concluiu que o modificador paládio é mais eficiente na análise de espécies de vanádio do que a mistura de iodo e cloreto de metiltriocetilamônia. Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a necessidade do uso de modificador químico para estabilizar outras formas de vanádio no petróleo e que esses compostos podem estar em uma quantidade considerável, sendo necessário levá-los em consideração durante as análises de rotina por GF AAS.



**Figura 8** - Curvas de temperatura de pirólise para vanádio. os dados para a amostra de petróleo OB3 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,0 mg de amostra;  $T_a = 2600$   $^{\circ}\text{C}$ .

### 5.1.2. Influência da massa de amostra

Na análise direta de sólidos uma pequena quantidade de amostra, tipicamente na faixa de 0,1-10 mg, geralmente se usa e devem ser pesadas com uma alta precisão.

A fim de avaliar os erros de pesagem (decorrentes da volatilidade do material) foram investigadas amostras de petróleo “leves”, que são líquidas ou de viscosidade relativamente baixa e petróleo “pesados”, que são altamente viscosos ou quase sólidos. No caso da amostra de petróleo “leve” que contém uma fração volátil maior (hidrocarbonetos leves), foi observada uma pequena queda no peso devido à volatilização. No entanto, mantendo-se a temperatura no laboratório em torno de 20-25 °C, este efeito foi minimizado. A estratégia usada para pesagem das amostras foi de manter o primeiro peso, não considerando a perda de massa em relação ao tempo. Estabeleceu-se a massa de amostra de petróleo possível de se pesar na plataforma de grafite e a faixa foi de 0,05 – 10 mg de petróleo.

Os coeficientes de variação (CV) das medidas de níquel em amostras de petróleo, com diferentes concentrações e características, estão apresentados na Tabela VII. As amostras OB7 e OB8 eram muito viscosas (quase sólidas), e a OB12 era a mais líquida (com maior fração volátil). O NIST SRM 1634c, um óleo residual de alta viscosidade, foi também investigado neste experimento. Como pode ser visto na Tabela VII, a precisão foi boa e similar aos valores reportados para análise direta de sólidos [13,135], mostrando que a precisão não foi afetada pela estratégia usada para pesagem das amostras. Observa-se que, ao contrário das expectativas, a precisão para a amostra OB12 foi melhor do que para as outras, embora esta amostra tenha sido a mais afetada pela evaporação dos hidrocarbonetos voláteis. Parece que a menor viscosidade desta amostra, que facilita a sua transferência para a plataforma, tem maior importância do que os potenciais erros de pesagem devido a perdas por volatilização.

Por outro lado altas concentrações de níquel parecem ser um fator limitante, devido à pequena quantidade de massa de amostra que pode ser pesada para dar um sinal dentro da faixa linear. Embora tenha sido usada uma linha espectral menos sensível, amostras com altas concentrações de níquel parecem ter uma maior influência na precisão da análise direta.

**Tabela VII** – Coeficientes da variação (CV) das medidas de níquel em amostras de petróleo (20 µg de Pd como modificador).

<b>Amostra</b>	<b>Concentração de Ni (µg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Massa aproximada (mg)</b>	<b>CV (%, n =6)</b>
<b>OB7</b>	2,81*	3,0	3,3
<b>OB8</b>	59,1*	0,05	10
<b>OB12</b>	10,4*	0,6	2,5
<b>SRM 1634c</b>	17,5	0,5	8,6

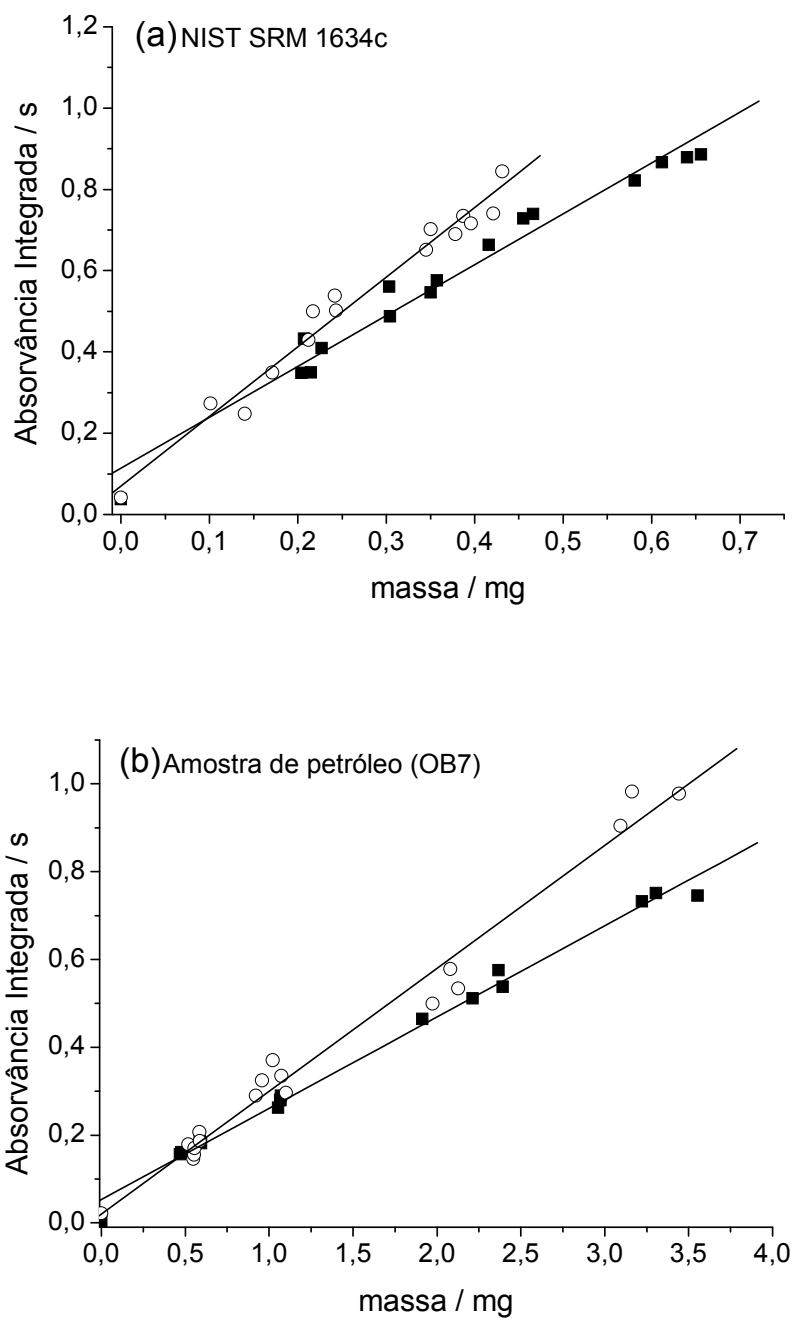
\* Referência 88

A homogeneidade das amostras também foi investigada. Para este propósito as amostras foram aquecidas a 40 °C em um banho com água e vigorosamente agitadas com um bastão de vidro antes da análise. Os CV (s) obtido de 10 medidas, para estas 4 amostras, antes e depois deste procedimento, não foram significativamente diferentes, mostrando que a distribuição do analito nestas amostras era homogêneo.

A influência da massa de amostra na linearidade de resposta e nos erros potenciais de medida foi também investigada usando as quatro amostras listadas na Tabela VII, as quais apresentam concentrações de níquel significativamente diferentes. Para a amostra com a menor concentração de níquel (OB7), massas de amostra entre 0,5 e 4,0 mg foram usadas para as análises, a relação entre a massa e absorvância integrada encontrada não foi linear. Mesmo para amostras com maiores concentrações de níquel (OB12 e SRM 1634c), com massas analisadas entre 0,1 e 0,7 mg, o mesmo comportamento foi observado. Somente para a amostra com uma concentração alta de níquel (OB8), para a qual somente massas menores do que 0,1 mg puderam ser introduzidas plataforma de grafite, a relação entre massa e absorvância integrada foi linear. Uma tentativa para resolver o problema foi aumentar a concentração de paládio, mas que não resultou em uma relação linear para as amostras afetadas. Suspeitou-se de que o problema estaria associado com a superfície recoberta pelo modificador, o qual foi adicionado antes da amostra, conforme descrito no item 4.5.1.1. O mais provável é que 20 µL da solução não seriam suficientes para recobrir toda a superfície da plataforma, e o modificador paládio, depois da etapa de secagem, estaria depositado somente na parte central da plataforma. No entanto, para a amostra de petróleo deve ocorrer o espalhamento sobre toda a superfície da plataforma após o aquecimento, significando que

parte da amostra, dependendo da massa introduzida, não estaria em contato com o modificador, resultando em perdas de compostos voláteis.

Para confirmar essa suposição e tentar resolver este problema, um volume maior (40  $\mu\text{L}$ ) de solução de paládio e com uma concentração menor do elemento ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ) foi injetada, e 0,05 % Triton X-100 foi adicionado à solução do modificador a fim de obter um melhor espalhamento da solução sobre a superfície da plataforma. Depois desta modificação a relação obtida entre a massa e absorvância integrada foi linear para todas as amostras investigadas, mesmo com massas relativamente altas de amostra. As curvas utilizando 20  $\mu\text{L}$  de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  de Pd e 40  $\mu\text{L}$  de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  de Pd com 0,05% Triton X-100, para duas amostras diferentes estão apresentadas na Figura 9. A perda de sensibilidade, em torno de 35 e 25%, observada para as massas altas das amostras OB12 e SRM 1634c, respectivamente, usando 20  $\mu\text{L}$  da solução de modificador mais concentrada, foram completamente eliminadas usando um volume de 40  $\mu\text{L}$  do modificador mais diluído adicionado de Triton X-100. Assim, nos futuros experimentos usou-se um volume de 40  $\mu\text{L}$  do modificador mais diluído ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$  de Pd) adicionado de Triton X-100.



**Figura 9** - Influência da massa de amostra na linearidade de resposta para dois diferentes modos de utilizar o modificador. (a) SRM 1634c e (b) amostra de petróleo OB7; (■) 20 μL de 1,0 g L<sup>-1</sup> Pd e (○) 40 μL de 0,5 g L<sup>-1</sup> Pd com 0,05% Triton X-100.



### 5.1.3. Figuras de mérito

As curvas analíticas foram obtidas utilizando-se os programas de aquecimento específicos para níquel e vanádio, a partir de: (i) padrões aquosos, (ii) padrões aquosos emulsificados com xileno e Triton X-100, usados com sucesso em trabalhos anteriores na determinação de níquel em petróleo emulsificados da mesma maneira [48], e (iii) material de referência certificado NIST SRM 1634c.

As curvas analíticas foram estabelecidas com e sem modificador. Observando a Tabela VIII, constata-se que os coeficientes angulares das curvas de níquel foram praticamente iguais, embora uma massa característica menor foi obtida para as emulsões. Para a curva obtida com o SRM 1634c, sem modificador, obteve-se uma massa característica maior, o que se deve ao fato de que compostos de níquel voláteis presentes neste material devem ter sido perdidos durante o programa de aquecimento. Os resultados mais importantes foram as similaridades entre os valores de massa característica obtidos para as soluções aquosas (com e sem modificador) e CRM (com modificador), o que sugere fortemente que padrões aquosos podem ser usados para calibração. Deve-se enfatizar que, quando possível, a calibração com um ou mais CRM deve ser evitada, pois além de ser cara não é recomendada para análise de rotina, uma vez que contribui significativamente para a imprecisão, devido a incerteza do valor certificado que será introduzida na calibração [135,136]. Outra característica é que a curva analítica pode ser preparada sem adição de modificador, e a mesma curva poderia ser usada para determinação de níquel termicamente estável (analisando as amostras sem modificador) e níquel total (analisando as amostras com modificador) e o níquel volátil pode ser calculado por diferença. Para o vanádio, assim como para o níquel, constata-se a similaridade dos coeficientes angulares das curvas, por isso a curva analítica com padrões aquosos, para ambos os analitos, foi utilizada para a análise das amostras de petróleo.

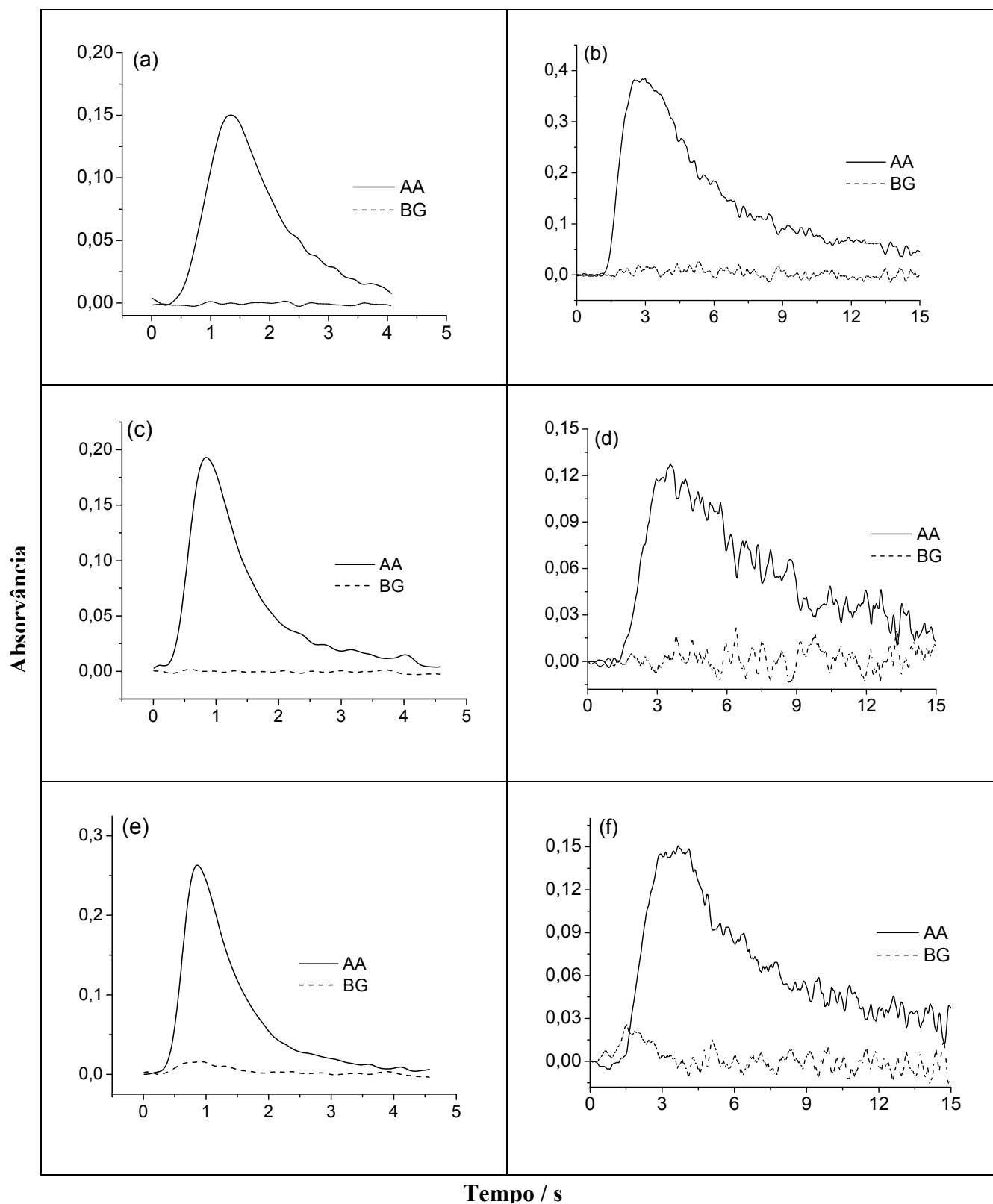
**Tabela VIII** - Figuras de mérito para determinação de níquel e vanádio em petróleo usando emulsões, padrões aquosos e CRM para calibração, sem e com a adição de paládio como modificador químico.

<b>Analito</b>	<b>Método</b>	<b>Equação de regressão linear</b>	<b>R</b>	<b>m<sub>0</sub> / pg</b>
<b>Ni</b>	<b>SRM 1634C</b>	$A = 0,01892 + 0,08109m$	0,9992	44
	<b>SRM 1634C*</b>	$A = 0,06913 + 0,09800m$	0,9925	38
	<b>Emulsão</b>	$A = 0,07437 + 0,09788m$	0,9927	27
	<b>Emulsão*</b>	$A = 0,06848 + 0,09941m$	0,9904	28
	<b>Padrão aquoso</b>	$A = 0,02313 + 0,09294m$	0,9964	40
	<b>Padrão aquoso*</b>	$A = 0,02235 + 0,09297m$	0,9968	34
<b>V</b>	<b>Emulsão</b>	$A = 0,0205 + 0,1768m$	0,9922	20
	<b>Padrão aquoso</b>	$A = 0,01018 + 0,1858m$	0,9966	21

\*20 µg de Pd + Triton X-100

O programa de aquecimento da Tabela IV foi utilizado.

A Figura 10 mostra os perfis de absorvância para níquel e vanádio em padrões aquosos e na amostra de petróleo OB3 na ausência de modificador e com paládio + Triton X-100 como modificador. Os perfis dos sinais são muito similares nas diferentes situações, comprovando a possibilidade de que padrões aquosos podem ser utilizados na determinação de níquel e vanádio em petróleo com a técnica proposta.



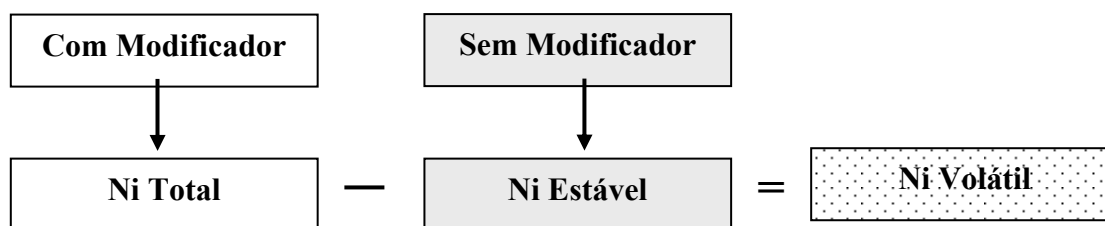
**Figura 10** - Perfis de absorvância para níquel (a, c, e) e vanádio (b, d, f) em padrão aquoso – 2 ng de Ni (a), e 10 ng de V (b); amostra de petróleo (OB3) sem modificador (c, d); amostra de petróleo (OB3) com 20  $\mu$ g de Pd + Triton X -100 como modificador (e, f). Temperatura de atomização; Ni (2400 °C) e V (2600 °C).

O sinal para vanádio apresenta um tempo longo em relação ao de níquel e isso se deve ao fato de ser um dos elementos refratários que formam carbetos estáveis, requerendo uma alta temperatura de atomização. Mesmo usando-se uma temperatura alta, esta parece não ser suficiente para uma rápida atomização, como pode ser visto na Figura 10. Apesar disso, não foi observado nenhum problema de efeito de memória depois de cada análise.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), foram calculados baseados na “resposta de massa zero” [135], 3 vezes e 10 vezes o desvio padrão, respectivamente, de 10 leituras obtidas a partir da atomização de uma plataforma contendo apenas o modificador. Os valores encontrados foram de 0,017 e 0,056 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, para níquel e 0,018 e 0,062 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente para vanádio, baseados em massas de amostra de 10 mg. Essa massa foi considerada para os cálculos por estar próxima a quantidade máxima de petróleo que pode ser analisada. O LD de níquel foi comparado com os valores reportados na literatura para técnicas de emulsão e microemulsão [88] e os resultados obtidos neste trabalho foram melhores. Comparando aos resultados obtidos na literatura para níquel por SS-GF AAS [137,138] os resultados obtidos neste trabalho foram piores. No entanto, deve ser salientado que os resultados podem ser em torno de 4 vezes melhores para este elemento usando a linha espectral mais sensível. Levando-se em conta essa diferença de sensibilidade os resultados obtidos neste trabalho foram compatíveis aos da literatura. Para vanádio, o LD foi também comparado com os valores da literatura para as técnicas de emulsão [88,134] e os resultados obtidos neste trabalho foram melhores. Como pode ser observado na Figura 10, a linha base apresenta bastante ruído, aumentando o desvio padrão do branco.

#### **5.1.4. Resultados Analíticos**

O uso de paládio como modificador permite a determinação da concentração total de níquel e vanádio em petróleo, e a determinação sem modificador, usando as mesmas temperaturas de pirólise, resulta na concentração de uma fração “termicamente estável”, e por diferença pode se determinar a fração volátil. O esquema pode ser melhor visualizado pelo fluxograma apresentado na Figura 11 .



**Figura 11** - Fluxograma usado na determinação de níquel e vanádio (estável, total e volátil).

As curvas de calibração estabelecidas com padrões aquosos sem modificador foram usadas para quantificação de ambos os elementos e espécies. Os resultados para o SRM 1634c e amostras de petróleo do Brasil estão apresentados nas Tabelas IX e X para níquel e vanádio respectivamente, e comparados com a técnica de emulsão desenvolvida em trabalhos anteriores do nosso grupo [88,134]. A fim de ter uma comparação com um procedimento independente, os valores de referências estabelecidos para níquel e vanádio total obtidos por HR-CS AAS, sem modificador e usando uma temperatura de pirólise de somente 400 °C para evitar perdas são mostradas nas Tabelas IX e X.

Não houve uma diferença significativa entre os resultados a um nível de 95% de confiança, aplicando-se o teste estatístico (*t-student* pareado). Os resultados obtidos para o CRM também mostraram que não houve uma diferença significativa a um nível de confiança de 95% do valor certificado para ambos os elementos. Infelizmente, como as concentrações dos compostos voláteis tiveram de ser determinada por diferença, os resultados sofrem das incertezas nas medidas dos compostos totais e dos estáveis. Este fato foi levado em consideração no cálculo dos desvios padrão da fração volátil nas Tabelas IX e X. Nos casos onde a concentração total é muito próxima à concentração “estável”, como o SRM 1634c, a fração volátil pode estar oculta dentro da incerteza da medida.

Os resultados obtidos neste trabalho fornecem várias informações interessantes e úteis. Primeiramente, em uma amostra de petróleo não foi detectado vanádio, isto é, menos do que 0,062 mg kg<sup>-1</sup>, e em outra foi encontrada uma concentração muito baixa (0,21 mg kg<sup>-1</sup>), o que é bastante incomum, pois a concentração deste elemento é tipicamente > 1 mg kg<sup>-1</sup> [42,67]. Outro fator interessante é que a fração volátil (porfirinas) encontrada estava entre 5 e 50% da concentração de níquel e vanádio total, e não houve uma correlação entre a fração volátil e a concentração total para ambos os elementos.

**Tabela IX** - Resultados analíticos obtidos para níquel no CRM e em amostras de petróleo com (Ni total) e sem (Ni estável) a adição de 20 µg de Pd com Triton-X 100 como modificador; a fração volátil de Ni foi determinada por diferença.

Amostra	Ni Total / µg g <sup>-1</sup>			Ni Estável / µg g <sup>-1</sup>		Ni Volátil / µg g <sup>-1</sup>	
	HR-CS AAS <sup>a</sup>	GF AAS <sup>a</sup>	SS-GF AAS	GF AAS <sup>a</sup>	SS-GF AAS	GF AAS <sup>a</sup>	SS-GF AAS
<b>SRM 1634c<sup>b</sup></b>	17,4 ± 0,3	17,7 ± 0,5	17,1 ± 1,2	17,1 ± 1,1	16,9 ± 1,3	0,6 ± 1,2	0,2 ± 1,8
<b>OB2</b>	21,8 ± 0,5	24,5 ± 0,2	23,7 ± 1,1	18,9 ± 0,2	18,9 ± 2,8	5,6 ± 0,3	4,8 ± 3,0
<b>OB3</b>	5,3 ± 0,4	4,9 ± 0,1	4,3 ± 0,5	3,5 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,5
<b>OB4</b>	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,03	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
<b>OB6</b>	34,0 ± 2,1	36,7 ± 1,1	31,2 ± 2,4	24,2 ± 0,7	28,3 ± 1,1	12,5 ± 1,3	2,9 ± 2,6
<b>OB7</b>	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,3	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,6	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,7
<b>OB8</b>	-	59,1 ± 1,9	80,2 ± 7,8	61,4 ± 2,2	76,6 ± 9,2	-	3,0 ± 12
<b>OB12</b>	-	10,4 ± 0,2	10,6 ± 0,7	5,4 ± 0,1	5,4 ± 0,5	5,0 ± 0,2	5,2 ± 0,9
<b>OB13</b>	-	14,8 ± 0,6	16,2 ± 2,4	8,5 ± 0,4	10,5 ± 0,5	6,3 ± 0,7	5,7 ± 2,5
<b>OB15</b>	-	16,6 ± 0,7	16,8 ± 1,2	10,5 ± 0,6	13,0 ± 0,3	6,1 ± 0,9	3,8 ± 1,2

<sup>a</sup> Referência 88

<sup>b</sup> SRM 1634c: 17,5 ± 0,21 µg g<sup>-1</sup> (valor certificado).

**Tabela X** - Resultados analíticos obtidos para vanádio no CRM e em várias amostras de petróleo com (V total) e sem (V estável) a adição de 20 µg de Pd com Triton-X 100 como modificador; a fração volátil foi determinada por diferença.

Amostra	V Total / µg g <sup>-1</sup>			V Estável / µg g <sup>-1</sup>		V Volátil / µg g <sup>-1</sup>	
	HR-CS AAS <sup>a</sup>	GF AAS <sup>b</sup>	SS-GF AAS	GF AAS <sup>b</sup>	SS-GF AAS	GF AAS <sup>b</sup>	SS GF AAS
<b>SRM 1634c<sup>c</sup></b>	29,3 ± 1,0	27,2 ± 1,2	27,2 ± 2,4	23,2 ± 2,0	22,9 ± 1,3	4,0 ± 2,3	4,3 ± 2,7
<b>OB2</b>	30,2 ± 0,4	28,7 ± 0,9	24,5 ± 1,5	23,3 ± 0,5	21,1 ± 0,7	5,4 ± 1,0	3,4 ± 1,7
<b>OB3</b>	3,18 ± 0,07	3,2 ± 0,1	3,77 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,87 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,9 ± 0,4
<b>OB4</b>	0,29 ± 0,04	0,24 ± 0,03	0,21 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,08 ± 0,04	0,09 ± 0,1
<b>OB6</b>	8,51 ± 0,2	8,4 ± 0,1	8,91 ± 0,5	6,4 ± 0,2	7,87 ± 0,3	2,0 ± 0,2	1,1 ± 0,6
<b>OB7</b>	< 0,04	< 0,06	< 0,02	< 0,06	< 0,02	-	-
<b>OB8</b>	0,75 ± 0,06	< 0,06	0,47 ± 0,04	< 0,06	0,42 ± 0,05	-	nd <sup>d</sup>
<b>OB12</b>	12,3 ± 0,3	12,1 ± 1,2	10,1 ± 1,2	8,9 ± 0,8	6,21 ± 0,6	3,2 ± 1,0	3,8 ± 1,3
<b>OB13</b>	-	18,5 ± 1,3	15,5 ± 2,1	13,7 ± 0,4	12,6 ± 0,6	4,8 ± 1,2	2,9 ± 2,2
<b>OB15</b>	-	16,2 ± 0,9	19,9 ± 1,2	14,0 ± 0,3	16,8 ± 1,2	2,2 ± 0,9	3,1 ± 1,7

<sup>a</sup>Referência 134

<sup>b</sup>Referência 88

<sup>c</sup>SRM 1634c: 28,5 ± 0,40 µg g<sup>-1</sup>

<sup>d</sup>nd: nenhuma diferença estatística entre os resultados para vanádio total e estável em concordância com o intervalo de confiança.

## **5.2. DETERMINAÇÃO DE CHUMBO EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR SS-GF AAS E GF AAS COM DIFERENTES ATOMIZADORES (PIN E THFA)**

Nesta parte do trabalho, o objetivo foi comparar duas técnicas (SS GF AAS e GF AAS com diferentes atomizadores) para determinação de chumbo em petróleo, sendo que duas técnicas eram inovadoras (SS e THFA) e outra com atomizador convencional (PIN), levando em consideração a sensibilidade, a rapidez e a capacidade de ser aplicado na análise de rotina para determinação de chumbo em petróleo.

Na SS-GF AAS as amostras de petróleo foram pesadas diretamente sobre as plataformas de grafite, sem nenhum tratamento, enquanto que, para análise em THFA, as amostras foram emulsificadas de acordo com método desenvolvido anteriormente [88]. A fim de avaliar as vantagens fornecidas pela THFA GF AAS, às mesmas emulsões foram analisadas utilizando um tubo com plataforma PIN usado convencionalmente em GF AAS.

### **5.2.1 Modificadores e programa de aquecimento**

#### **5.2.1.1 Amostragem direta de sólidos (SS)**

Baseando-se nas experiências anteriores para determinação de níquel e vanádio em petróleo o uso de duas etapas de secagem no programa de aquecimento, como mostrado na Tabela IV, foram mantidas com o mesmo objetivo o de alcançar uma boa e completa remoção de todos os componentes voláteis quando se utilizam massas de até 3 mg de petróleo.

Para auxiliar na estabilidade térmica dos analitos voláteis, tais como chumbo em amostras complexas, o uso de modificadores químicos têm sido propostos para remover a matriz e/ou estabilizar o analito em maiores temperaturas de pirólise. Alguns modificadores tem sido propostos para determinação de chumbo em produtos de petróleo como Pd [139,140], Pd/Mg [139,141,142] e dihidrogenofosfato tetrabutílamônio como modificadores químicos convencionais adicionados em solução, Ir [142] e cloreto de Ir-metiltriocetilamônio (MTOACl) como modificadores permanentes [139].

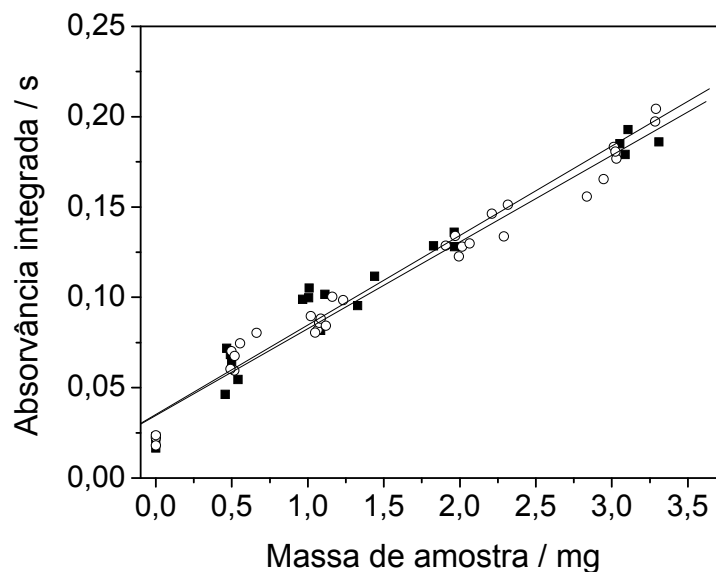
A pipetagem da solução de modificador sobre cada amostra na plataforma para SS antes da introdução no forno de grafite, obviamente, complica no procedimento analítico e o uso de modificadores permanentes evitaria a necessidade de adicionar o modificador antes de cada análise, como foi relatado anteriormente. Por esta razão, os modificadores permanentes



400  $\mu\text{g}$  Ir e 400  $\mu\text{g}$  Ru, respectivamente, foram inicialmente investigados neste trabalho. Além disso, o modificador convencional Pd/Mg também foi usado, pipetando-se o modificador sobre a amostra. Para esta investigação curvas de temperatura de pirólise foram realizadas usando esta técnica.

Antes de se obter as curvas de temperatura de pirólise usando o atomizador SS-GF AAS, foi realizado um estudo preliminar do volume ideal da solução de modificador, variando-se o volume de modificador de 10 a 30  $\mu\text{L}$  (correspondendo a 5-15  $\mu\text{g}$  de Pd e 3-9  $\mu\text{g}$  de Mg) usando uma temperatura de pirólise de 900  $^{\circ}\text{C}$ . O melhor sinal foi obtido com 20  $\mu\text{L}$  do modificador, contendo 10  $\mu\text{g}$  de Pd e 6  $\mu\text{g}$  de Mg. O modificador foi adicionado de duas maneiras: (i) pipetando-se o modificador na plataforma SS, e submetendo-se a plataforma contendo o modificador às duas etapas iniciais do programa de aquecimento (Tabela IV) a fim de secar e condicionar o modificador (detalhamento no subitem 4.5.1.1.). Após resfriamento, a plataforma era retirada do forno e a amostra era pesada na plataforma sobre o modificador seco; (ii) pipetando-se o modificador sobre a amostra já pesada na plataforma. Como apresentado anteriormente no subitem 5.1., em relação ao uso de modificadores químicos convencionais na análise direta de sólidos, também foi utilizado Triton X-100 (0,05% v/v) juntamente com o modificador convencional Pd/Mg/Triton X-100, pelo mesmo motivo. Este estudo foi realizado concomitantemente com o estudo da influência da massa de amostra na linearidade de resposta, descrito a seguir.

Para verificar se a massa de amostra apresentava alguma influência na linearidade de resposta, foi realizado um estudo variando-se a massa de amostra do petróleo OB 12 entre 0,5 e 3,0 mg. As curvas de correlação entre massa de amostra e absorvância integrada estão apresentadas na Figura 12. Ambos os procedimentos de aplicação do modificador apresentaram um comportamento muito semelhante, obtendo-se uma resposta linear para uma massa de amostra de até 3 mg. Baseando-se nestes resultados, o modificador foi pipetado sobre a amostra em todos os experimentos posteriores, porque este procedimento é mais simples e rápido.



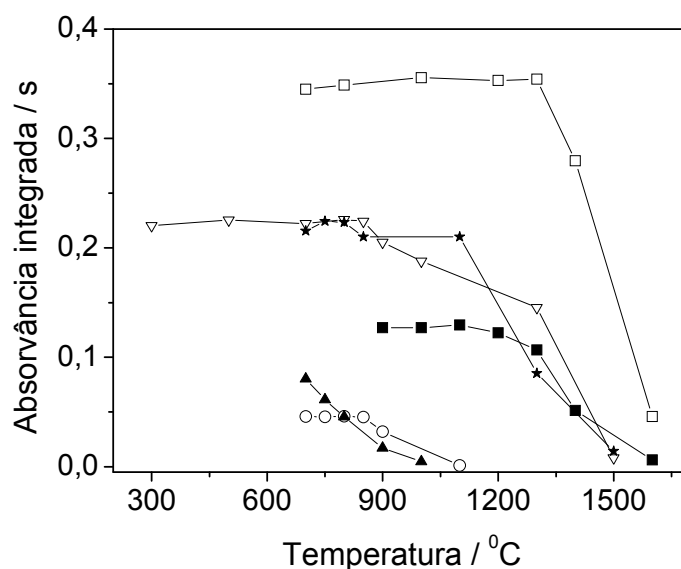
**Figura 12** - Influência da massa de amostra na linearidade de resposta usando dois modos diferentes de aplicar o modificador (20  $\mu$ L de Pd/Mg) para chumbo em amostras de petróleo OB12; (■) modificador pipetado sobre a amostra (○) secagem do modificador antes da pesagem da amostra. Programa de temperatura: Tabela V

Foram realizadas curvas de temperatura de pirólise para chumbo em padrão aquoso (0,5 ng de Pb) e em uma amostra de petróleo (OB12) com a adição de 20  $\mu$ L de solução de Pd/Mg como modificador convencional, rutênio (400  $\mu$ g) e irídio (400  $\mu$ g) como modificadores permanentes. As curvas de temperatura de pirólise obtidas para 0,5 ng de chumbo em padrão aquoso e para a amostra de petróleo (OB12) sob várias condições estão apresentadas na Figura 13. Os sinais obtidos (absorvância integrada) para a amostra de petróleo foram normalizados para 1,5 mg de amostra.

Devido aos elevados sinais de fundo para a amostra de petróleo (OB12) com adição de Pd/Mg, foi possível somente medir os sinais do analito em temperaturas de pirólise de 900  $^{\circ}$ C ou maiores. A máxima temperatura de pirólise que pode ser usada para a amostra de petróleo foi de 1100  $^{\circ}$ C, enquanto que para o padrão aquoso a temperatura foi de 1300  $^{\circ}$ C. Uma temperatura de pirólise de 1100  $^{\circ}$ C e uma temperatura de atomização de 2000  $^{\circ}$ C foram escolhidas para a determinação de chumbo em todos os futuros experimentos usando SS-GF AAS.

O uso de modificador permanente permitiu fazer medidas a 700  $^{\circ}$ C. No entanto, observou-se que o sinal para chumbo foi menor comparado ao uso de Pd/Mg. Quando o

modificador permanente irídio foi usado, o sinal de chumbo em padrões aquosos e na amostra de petróleo (OB12) foi reduzido em torno de 40 e 65%, respectivamente, como mostra a Figura 13. A mesma sensibilidade foi obtida com o uso do modificador permanente rutênio para chumbo em padrão aquoso. Para a amostra de petróleo (OB12) a curva obtida mostrou uma rápida queda na sensibilidade em torno de 45% referente ao primeiro ciclo de atomização, como pode ser observado na Figura 13. Portanto, pode-se concluir que o poder de estabilização dos modificadores permanentes não foi satisfatório, resultando em perdas do analito em temperaturas relativamente baixas. Suspeita-se que o níquel e vanádio, que estão sempre presentes em altas concentrações em petróleo, causam uma espécie de envenenamento, impedindo a ação dos modificadores permanentes de estabilizar o chumbo. Este fenômeno foi observado na determinação de níquel e vanádio em amostras de petróleo por SS-GF AAS citado no início deste trabalho (subitem 4.1.1). Baseando-se nestes fatos o uso destes modificadores não foram mais investigados depois destes experimentos.

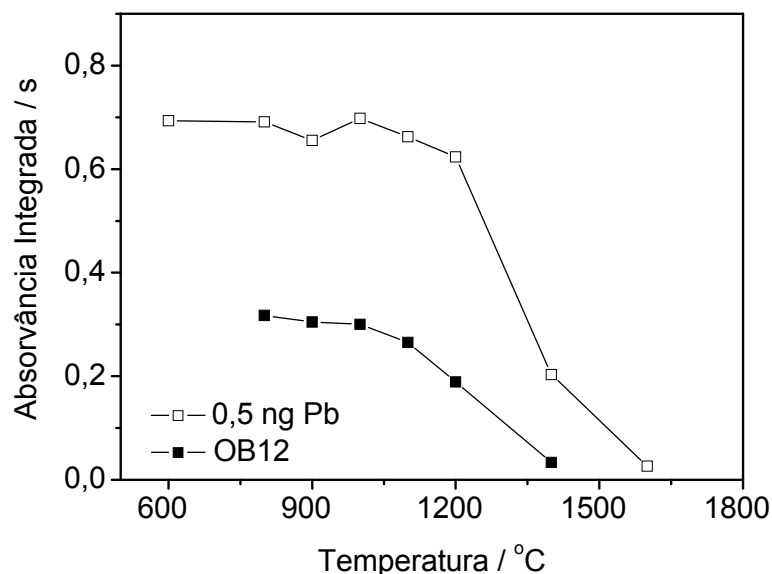


**Figura 13** - Curvas de temperatura de pirólise para chumbo usando SS-GF AAS: 0,5 ng de Pb com: -□- Pd/Mg; -▽- 400 µg de Ru; -★- 400 µg de Ir; amostra OB12: -■- Pd/Mg; -▲- 400 µg de Ru; -○- 400 µg de Ir. Os dados para a amostra de petróleo OB12 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,5 mg de amostra;  $T_a = 2000$  °C;

### 5.2.1.2 Análise de emulsões usando THFA GF AAS

Uma diferente alternativa em GF AAS é o emprego do atomizador com filtro de aquecimento transversal (THFA) desenvolvido pelo grupo do Dr. Dmitry A. Katskov [103,104,143], cujas principais vantagens são o aumento do volume de amostra até 100  $\mu\text{L}$ , tempo de secagem curto (10-15 s), melhora de duas a três vezes o limite de detecção, e uma eficiente redução nas interferências não-espectrais e de fundo [105,106]. É uma opção mais barata e que já foi empregada com sucesso em matriz reconhecidamente complexa como combustível automotivo e óleos comestíveis [104,105].

Neste trabalho, baseando-se na experiência anterior com SS-GF AAS, somente o modificador convencional Pd/Mg foi investigado para a determinação de chumbo em petróleo usando THFA GF AAS. O volume de modificador e a necessidade do uso de Triton X-100 também foram investigados com THFA GF AAS. Os sinais de absorvância do chumbo na amostra de petróleo (OB 12) em emulsão não mudaram quando o volume de modificador foi aumentado de 10  $\mu\text{L}$  a 30  $\mu\text{L}$ ; a adição de Triton X-100 ao modificador também não mostrou nenhum efeito; por isso, 10  $\mu\text{L}$  de modificador, correspondendo a 5  $\mu\text{g}$  de Pd + 3  $\mu\text{g}$  de Mg sem a adição de Triton X-100 foi usado para a análise das emulsões usando THFA GF AAS. As curvas de temperatura de pirólise mostradas na Figura 14 para a amostra de petróleo (OB12) e padrão aquoso (0,5 ng de Pb) estão similares as curvas obtidas com SS-GF AAS, exceto pelo fato de que a temperatura máxima de pirólise foi um pouco menor. A principal diferença foi que a sensibilidade obtida foi em torno de duas vezes maior para chumbo em padrão aquoso e em amostra de petróleo. O surpreendente foi que, mesmo no THFA GF AAS o sinal de fundo para a amostra de petróleo foi muito elevado, de modo que as medidas só foram possíveis com temperaturas acima de 800 °C. A explicação mais provável é que a emulsão poderia penetrar nos poros e no interior do tubo de grafite, conseqüentemente impedindo a função do THFA GF AAS; a penetração de solventes orgânicos em grafite porosos é um fenômeno bem conhecido. A melhor temperatura de pirólise foi 1000 °C para ambos, padrão aquoso e amostra de petróleo. Uma temperatura de pirólise de 1000 °C e uma temperatura de atomização de 2000 °C foram escolhidas para a determinação de chumbo em todos os futuros experimentos usando THFA.



**Figura 14** - Curvas de temperatura de pirólise para chumbo usando THFA GF AAS; Os dados para a amostra de petróleo OB12 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,5 mg de amostra; Ta = 2000 °C; Modificador químico: Pd/Mg.

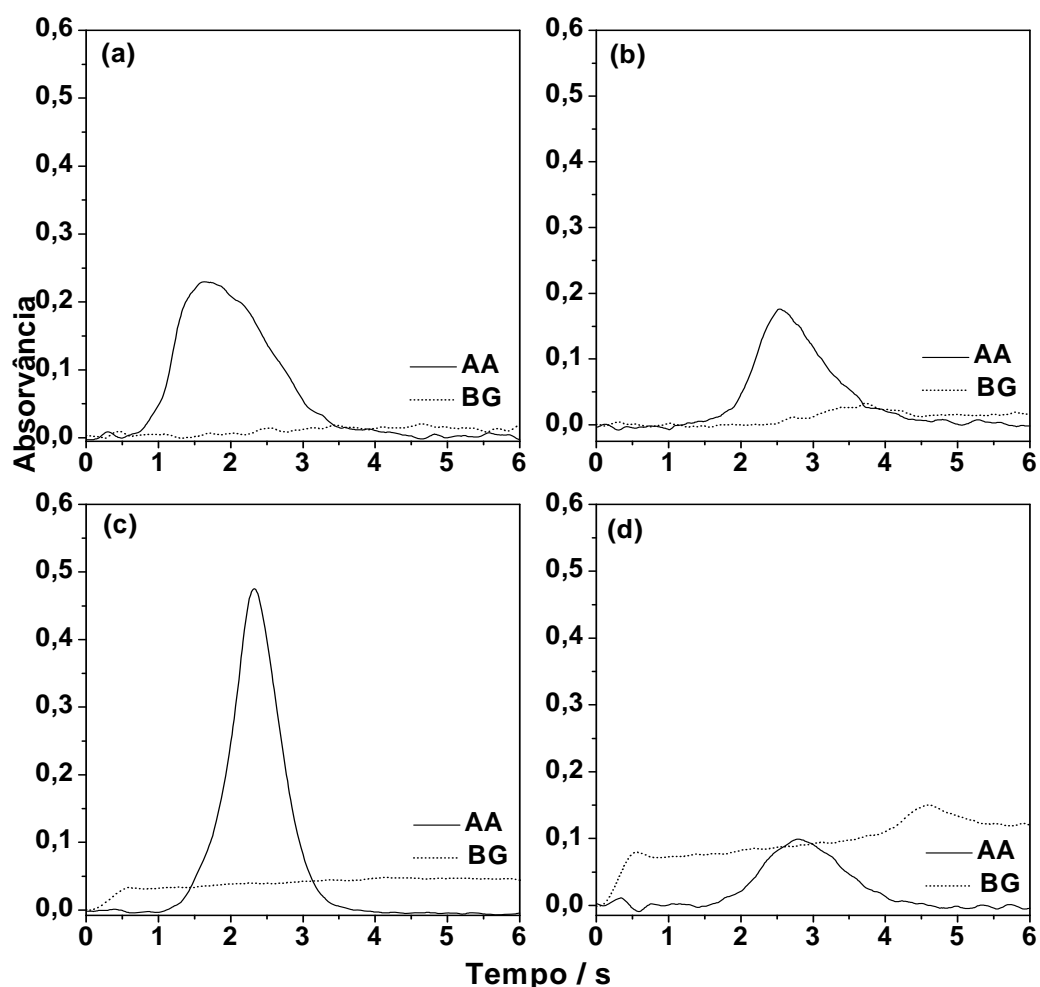
### 5.2.2. Sinais de atomização

Estabelecidos os parâmetros instrumentais, foram analisados os perfis de absorvância e a absorção do sinal de fundo de um padrão aquoso (0,5 ng de Pb) e da amostra de petróleo (OB12) usando SS-GF AAS e THFA GF AAS; os picos estão ilustrados na Figura 15. Analisando os picos para chumbo de um padrão aquoso e da amostra de petróleo por SS-GF AAS, observa-se uma similaridade da forma dos picos. Também, pode-se observar que o sinal do chumbo no padrão aquoso tem um tempo de permanência menor e o sinal de fundo é negligenciável, demonstrando a eficiente remoção da matriz de petróleo durante a etapa de pirólise.

Os sinais para chumbo do padrão e da amostra em emulsão são também similares para THFA, apresentando a mesma tendência, aparecendo em tempo maior para a amostra de petróleo. Observa-se um alto sinal de fundo (em comparação com SS) para a amostra de petróleo e atribui-se a hipótese de que a matriz de petróleo pode estar penetrando no filtro do tubo de grafite poroso podendo ser liberada apenas lentamente na etapa de atomização. O amplo sinal de fundo, embora menor para o padrão aquoso, suporta esta explicação, uma vez que o padrão foi preparado com o óleo base, que aparentemente também penetra no tubo de

grafite. No entanto, neste caso se observa um sinal de fundo menor, uma vez que o padrão não contém nenhum asfalteno ou resina.

Uma temperatura de atomização de 2000 °C foi escolhida baseando-se na sensibilidade e forma do sinal analítico para ambas as técnicas. O programa de temperatura completo está apresentado na Tabela V.



**Figura 15** - Perfis de absorvância para chumbo (a,c) em padrão aquoso – 0,5 ng de Pb, e (b,d) petróleo OB12; (a, b) SS-GF AAS e (c, d) THFA GF AAS; Modificador químico: Pd/Mg.

### 5.2.3. Figuras de mérito

As figuras de mérito obtidas para SS-GF AAS, PIN e THFA GF AAS estão apresentadas na Tabela XI. As curvas analíticas foram estabelecidas usando um branco e cinco soluções de calibração na faixa de concentração de 25 – 150  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Pb (0,25 – 1,5 ng de Pb) para SS-GF AAS e PIN e de 5 – 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Pb (0,05 – 0,5 ng de Pb) para THFA GF

AAS. As curvas analíticas para SS-GF AAS e THFA GF AAS foram estabelecidas usando padrões aquosos e padrões aquosos em emulsão. A sensibilidade foi muito semelhante para os padrões aquosos e em emulsão usando ambos os atomizadores, como pode ser visto na Tabela XI, o que sugere que padrões aquosos podem ser utilizados para a calibração. A sensibilidade, expressa como a inclinação da curva analítica, é mais do que 2,5 vezes maior para THFA GF AAS, em comparação a SS-GF AAS e PIN. Os valores obtidos de massa característica para SS-GF AAS estão em boa concordância com os relatados na literatura [42]. O efeito mais evidente é o aumento significativo na sensibilidade com THFA GF AAS, atribuído ao reduzido diâmetro interno do tubo, conseqüentemente resultado de uma maior densidade da nuvem atômica.

**Tabela XI** - Equação de regressão linear e coeficiente de correlação (R) das curvas de calibração para determinação de chumbo com diferentes atomizadores, usando emulsão e padrões aquosos por GF AAS; Pd/Mg foi usado em todas as técnicas como modificador químico.

<b>Técnica</b>	<b>Método</b>	<b>Equação de regressão linear</b>	<b>R</b>
<b>SS<sup>a</sup></b>	Padrão aquoso	$A = 0,0024 + 0,4710m$	0,9988
	Emulsão com padrão aquoso	$A = 0,0304 + 0,5173m$	0,9985
<b>THFA<sup>b</sup></b>	Padrão aquoso	$A = 0,0162 + 1,190m$	0,9993
	Emulsão com padrão aquoso	$A = 0,0063 + 1,146m$	0,9986
<b>PIN<sup>b</sup></b>	Padrão aquoso	$A = 0,0025 + 0,4977m$	0,9995

<sup>a</sup> LD e LQ baseados na técnica “resposta de massa zero” calculado para 3 mg de amostra

<sup>b</sup> LD e LQ estão calculados para 1,5 mg de amostra em emulsão

Os valores de massa característica obtido em todas as situações estão mostrados na Tabela XII. Os valores estão em concordância com os comentados anteriormente: para o THFA houve um aumento da sensibilidade em aproximadamente 2,5 vezes. Este efeito pode ser atribuído ao reduzido diâmetro da nuvem atômica absorvente.

Os limites de detecção (LD) e o de quantificação (LQ), respectivamente, obtidos com SS-GF AAS, PIN e THFA GF AAS foram comparados. Os valores foram calculados para o máximo de amostra investigada em cada atomizador, 3 mg para SS e 1,5 mg para THFA GF AAS (correspondendo para massa de amostra em 30 µL de emulsão preparada com 500 mg

de amostra). No entanto, THFA GF AAS permite uma injeção de 100  $\mu\text{L}$  de solução no atomizador, indicando que o LD e LQ obtidos com THFA GF AAS podem aumentar com aumento do volume de emulsão inserido no forno. Para SS-GF AAS as medidas do branco foram feitas segundo a técnica ‘resposta de massa zero’ [135]. As soluções do branco da curva analítica foram usadas com a adição do modificador para estabelecer o LD e o LQ para THFA. Os resultados obtidos para SS-GF AAS e THFA GF AAS são similares, significando que a maior massa que pode ser usada em SS-GF AAS, pode ser compensada pela maior sensibilidade do THFA GF AAS. Os resultados obtidos para PIN foram menores do que os obtidos para SS-GF AAS e THFA GF AAS.

Ambas as técnicas podem ser efetivas por permitirem uma maior massa de amostra ou volume de emulsão para melhorar ainda mais o LD e o LQ, no entanto, esta opção não foi investigada, pois a sensibilidade foi adequada para a determinação de chumbo nas amostras de petróleo analisadas.

**Tabela XII** - Figuras de mérito para a determinação de chumbo por GF AAS; o modificador Pd/Mg foi usado para todas as técnicas.

<b>Técnica</b>	<b>Método</b>	<b><math>m_0</math> / pg</b>	<b>LD (n=10) / <math>\mu\text{g g}^{-1}</math></b>	<b>LQ (n=10) / <math>\mu\text{g g}^{-1}</math></b>
<b>SS<sup>a</sup></b>	Padrão aquoso	8,7	0,005	0,014
<b>THFA<sup>b</sup></b>	Padrão aquoso	3,5	0,004	0,014
<b>PIN<sup>b</sup></b>	Padrão aquoso	8,8	0,008	0,028

<sup>a</sup> LD e LQ foram calculados segundo a técnica de “resposta de massa zero” calculado para massa de amostra de 3 mg.

<sup>b</sup> LD e LQ estão calculados para 1,5 mg de amostra em emulsão.

A precisão para SS-GF AAS expressa como coeficiente de variação (CV) de 6 medidas de cada amostra de petróleo variou entre 7% e 25%. Estes valores são relativamente altos, provavelmente devido à baixa concentração do analito na amostra de petróleo. A maior imprecisão foi obtida para as amostras de petróleo mais viscosas. Considerando a complexidade da matriz de petróleo e da amostragem direta, que evita erros de manipulação, o CV obtido neste trabalho foi considerado aceitável. Estes valores são maiores do que os valores relatados na análise direta para níquel e vanádio no item 4.1., elementos que estão presentes em maiores concentrações. No entanto, os resultados obtidos para chumbo são



semelhantes aos valores relatados para análise direta de ferro, cobre e cromo em petróleo [109].

Para THFA GF AAS, o CV de 3 medidas de cada amostra em emulsão variou entre 1% e 4%, mostrando que a agitação manual foi eficaz para manter a homogeneidade da emulsão durante a etapa de amostragem. No entanto, a reprodutibilidade do preparo das emulsões, expressada como o CV de três alíquotas preparadas da mesma amostra, variaram entre 5% e 20%, valores similares aos obtidos com SS-GF AAS.

#### 5.2.4. Resultados analíticos

Os resultados obtidos para a determinação de chumbo em sete amostras de petróleo usando as três técnicas estão resumidos na Tabela XIII. As amostras (OB5 e OB7) foram homogeneizadas antes da análise como descrito na seção 5.5.1.1.; as amostras de petróleo menos viscosas não necessitaram de pré-tratamento. Usando a análise de variância (ANOVA) os resultados não foram significativamente diferentes a um nível de confiança de 95%. A concentração de chumbo nas sete amostras variaram entre 0,05 e 0,3 mg kg<sup>-1</sup>. A concordância entre os resultados confirma que calibração com padrões aquosos podem ser utilizados para a determinação de chumbo em amostras de petróleo com as técnicas propostas.

**Tabela XIII** - Resultados analíticos obtidos para chumbo em amostras de petróleo usando SS-GF AAS, PIN e THFA GF AAS; Pd/Mg como modificador.

Amostra	Concentração de Pb / mg kg <sup>-1</sup> (média ± SD)		
	SS (n=6)	PIN (n=3) <sup>a</sup>	THFA (n=3) <sup>a</sup>
OB3	0,332 ± 0,048	0,218 ± 0,004	0,281 ± 0,015
OB5	0,048 ± 0,012	0,045 ± 0,005	0,048 ± 0,006
OB7	0,272 ± 0,025	0,247 ± 0,012	0,258 ± 0,025
OB11	0,059 ± 0,011	0,076 ± 0,010	0,073 ± 0,011
OB12	0,076 ± 0,008	0,075 ± 0,003	0,082 ± 0,018
OB10	0,063 ± 0,007	0,069 ± 0,006	0,081 ± 0,017
OBA	0,261 ± 0,022	0,273 ± 0,008	0,263 ± 0,018

<sup>a</sup> SD foi calculado para valores de concentração de três alíquotas de cada amostra.

### 5.2.5 Validação

Validação é a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos [144].

Como não há material de referência certificado de petróleo ou um produto similar disponível com um valor certificado para chumbo, tornou-se necessário utilizar uma técnica de validação independente. O preparo de amostra é a parte mais crítica na análise de petróleo, e como está bem documentado que diferentes compostos orgânicos do mesmo analito podem apresentar sensibilidade diferentes, a abordagem mais rigorosa, obviamente, é uma completa mineralização do petróleo. Para validar os métodos propostos, foram preparadas digestões da amostra em frascos de digestão abertos com ácido sulfúrico, ácido nítrico e peróxido de hidrogênio e aquecimento a 200 °C por cerca de 24 h, conforme descrição no subitem 5.5.1.4.

Os resultados obtidos para chumbo em três amostras de petróleo, OB3, OB10 e OB11 foram  $0,339 \pm 0,006 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $0,081 \pm 0,017 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $0,069 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1}$  de Pb, respectivamente. Estes valores não foram diferentes significativamente dos valores obtidos por SS-GF AAS e THFA GF AAS, apresentados na Tabela XIII, de acordo com a análise de variância (ANOVA) a um intervalo de confiança de 95%. Isto mostra que os métodos propostos fornecem resultados exatos, embora sejam muito simples e usem calibração com padrões aquosos.

Experimentos de recuperação também foram realizados, adicionando padrão aquoso de chumbo em duas amostras, OB11 e OB12, como descrito nos subitens 5.5.1.3.; os resultados das recuperações foram de  $91 \pm 6$  e  $92 \pm 9\%$  para SS-GF AAS e  $97 \pm 1$  e  $102 \pm 2\%$  para THFA, respectivamente. Estes resultados mostram que a forma em que os compostos de chumbo estão presentes não influenciam significativamente na sensibilidade em GF AAS, em especial nos casos de SS-GF AAS em que o padrão aquoso foi adicionado sobre a amostra sem nenhuma mistura prévia.

Os resultados obtidos nesta parte do trabalho permitem as seguintes conclusões: (i) a determinação de chumbo em amostras de petróleo usando THFA GF AAS é mais sensível do que SS-GF AAS e PIN; (ii) o uso de SS-GF AAS pode ser aplicado com sucesso para determinação direta de chumbo em amostras de petróleo, é uma análise mais rápida, considerando que não há necessidade de nenhum preparo de amostra.

### 5.3. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM CARNE *IN NATURA* USANDO SS-GF AAS

#### 5.3.1. Seleção do comprimento de onda

A precisão obtida com SS-GF AAS, entre outros parâmetros, depende criticamente da massa de amostra introduzida no tubo de grafite e de possíveis interferências espectrais ocasionadas pela matriz. A fim de investigar esses fatores, a seleção do comprimento de onda é muito importante. Neste caso, duas situações inversas podem ser utilizadas: a linha analítica primária que é a mais usada e pode ser empregada para amostras com baixas concentrações do analito ou linhas alternativas, que podem ser usadas como se fosse uma diluição de amostras com altas concentrações do analito. Em algumas situações pode-se eliminar ou amenizar os sinais de fundo ocasionados pelas interferências espectrais em linhas primárias.

A linha mais sensível para chumbo, 217,0 nm, foi inicialmente investigada com os materiais de referência certificados de fígado e músculo bovino, uma vez que as concentrações desse analito nas amostras são baixas. No entanto, uma rigorosa interferência espectral foi observada e não pode ser eliminada com o sistema de corretor de sinal de fundo de deutério do instrumento, inviabilizando o uso desta linha neste trabalho.

Borges *et al.* [145] usando HR-CS AAS para a determinação de chumbo em materiais biológicos, observou uma forte absorção de fundo devido ao espectro de excitação dos elétrons da molécula de monóxido de fósforo (PO) e conseqüente absorção na vizinhança da linha de 217,0 nm. Esta absorção molecular exibe uma pronunciada estrutura rotacional fina, que pode ser controlada com equipamento HR-CS AAS, mas não pode ser corrigido pelo corretor com lâmpada de deutério; a exatidão dos resultados obtidos neste caso depende da matriz bem como da concentração do analito [146,147].

Alternativamente, uma outra linha, a de 283,3 nm é adequada para a determinação de chumbo usando GF AAS e corretor com lâmpada de deutério. Nessa linha a sensibilidade é aproximadamente três vezes menor da que se obtém com a linha ressonante primária. Neste comprimento de onda foi observado um sinal de fundo menor, que pode ser corrigido pelo corretor com lâmpada de deutério. Entretanto, uma menor sensibilidade requer a introdução de massas de amostra relativamente maiores no atomizador, em torno de 10 mg, que resulta numa absorção de fundo relativamente alta, causando uma alta imprecisão dos resultados. Massas de amostra maiores do que 10 mg não puderam ser usadas devido aos altos valores da

absorção de fundo ( $BG > 1$ ) observados neste caso. Esse comportamento foi observado para todas as amostras independente do pré-tratamento, ex. amostras *in natura*, liofilizadas ou secas. No caso do cádmio a linha espectral primária de 228,8 nm pode ser usada sem problemas para esta determinação. Devido ao fato deste analito apresentar sensibilidade significativamente maior, foi possível analisar massas pequenas de amostras e não foi observada interferência espectral significativa quando foram usadas temperaturas de pirólise maiores do que 700 °C.

### 5.3.2 Programa de aquecimento e modificadores

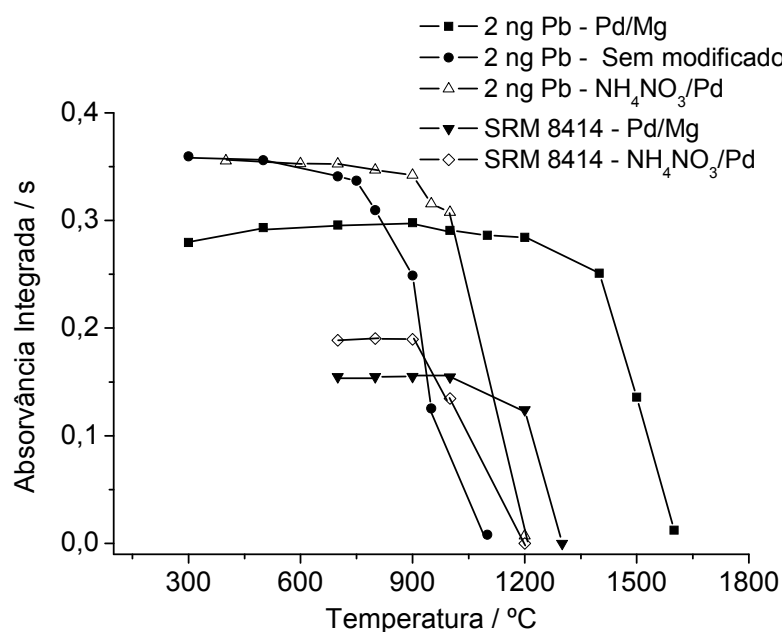
A fim de resolver o problema das baixas concentrações do analito e dos altos valores de sinais de fundo, que é notório no caso de chumbo, foi investigado o uso da mistura de paládio e magnésio como modificador químico. O modificador Pd/Mg foi proposto por Schlemmer e Welz [148] há 20 anos atrás e atualmente tem sido considerado como modificador universal [147]. Este modificador é muito efetivo para uma variedade de amostras e elementos [42,149,150,151].

Neste trabalho o modificador foi utilizado de duas maneiras: primeiramente foi introduzido sobre a amostra (massas menores de 3 mg); em outra situação foi seco completamente na plataforma antes de pesar as amostras (massas maiores de 3 mg). Foi investigada a adição de Triton X-100 na solução de modificador com o propósito de espalhar melhor a solução sobre a superfície da plataforma. Quando adicionado sobre a amostra, Triton X-100 ajuda no espalhamento do modificador sobre a mesma [108]. O uso de Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> também tem sido proposto como modificador para chumbo [42] e foi investigado no presente trabalho, sendo aplicado da mesma forma que o modificador Pd/Mg, com a adição de Triton X-100.

Os materiais de referência de fígado bovino (NIST 1577b) e músculo bovino (NBS 8414) foram usados para estabelecer os parâmetros do programa de aquecimento. Assim como para o petróleo, para a carne *in natura* também foi realizada uma investigação detalhada com a etapa de secagem, devido ao alto teor de umidade das amostras.

Foram realizadas curvas de temperatura de pirólise para chumbo em músculo bovino (NBS 8414) e para 2 ng de Pb em 0,014 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, sem modificador e com a adição de Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e Pd/Mg como modificadores, as quais estão mostradas na Figura 16. Para construir a curva de chumbo em músculo bovino (NBS 8414), iniciou-se em 700 °C e

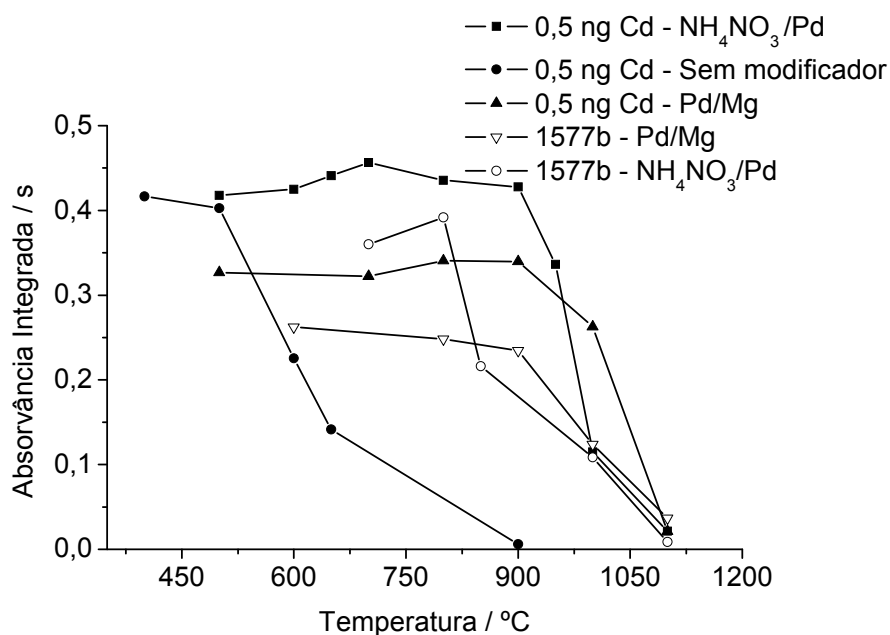
aumentou-se gradativamente a temperatura até atingir 1300 °C. Temperaturas de pirólise abaixo de 700 °C não puderam ser usadas devido a altas mudanças do sinal de fundo, causado pela matriz. Isto ocorre porque a eliminação da matriz a baixas temperaturas de pirólise é incompleta, e, portanto a fumaça gerada durante a etapa de atomização resulta no espalhamento da radiação [146]. Pode-se observar através das curvas mostradas na Figura 16, que o modificador Pd/Mg possibilita temperaturas de pirólise mais altas e sensibilidade em torno de 20% menores, comparado com Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> para ambos, padrão aquoso e amostra, o que esta em concordância com a literatura [42]. Temperaturas de pirólise de 900 °C e 1000 °C foram escolhidas para os modificadores Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e Pd/Mg, respectivamente, e foram usadas em todos os experimentos posteriores.



**Figura 16** - Curvas de temperatura de pirólise para chumbo em solução aquosa e em músculo bovino (NIST SRM 8414) sem modificador, com Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100 e Pd/Mg/Triton X-100 como modificadores. Os dados para o CRM estão apresentados como “absorvância integrada normalizada” (absorvância integrada calculada para 1 mg de amostra). Ta =2000 °C.

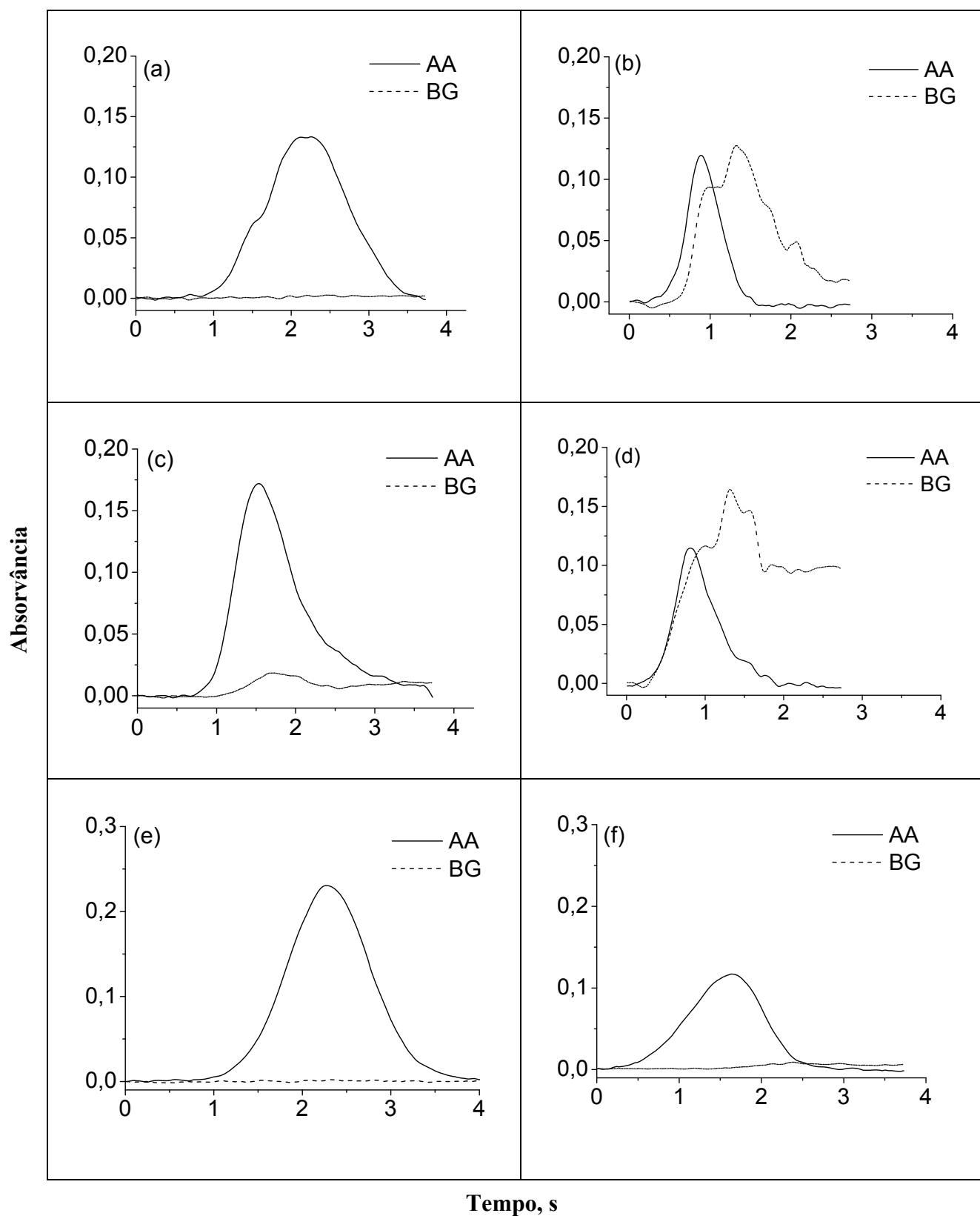
As curvas de temperatura de pirólise para cádmio em padrão aquoso e no CRM de Fígado Bovino (NIST 1577b) sem modificador e com os modificadores Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100 e Pd/Mg/Triton X-100 estão apresentados na Figura 17. Similar ao chumbo, uma

menor sensibilidade foi observada para cádmio com o último modificador, em ambos padrão aquoso e CRM. Como a sensibilidade não foi um problema na determinação de cádmio, o modificador Pd/Mg foi escolhido para todos os experimentos, pois esse modificador possibilita uma temperatura de pirólise de 900 °C, maior do que a de 800 °C obtida com Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Assim fixou-se a temperatura de pirólise em 900 °C para cádmio.



**Figura 17** - Curvas de temperatura de pirólise para cádmio em solução aquosa e no fígado bovino (NIST SRM 1577b) com Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100 e Pd/Mg/Triton X-100 como modificadores químicos. Os dados para as curvas com CRM estão apresentados como ‘absorvância integrada normalizada’ (absorvância integrada calculada para 0,1 mg de amostra). Ta = 2000 °C.

Perfis de absorvância e absorção do sinal de fundo também foram considerados na otimização das condições do programa de aquecimento para cádmio e chumbo; alguns sinais de atomização e de fundo típicos estão apresentados na Figura 18. Esta figura também mostra a similaridade da forma dos sinais para chumbo em um padrão aquoso com diferentes modificadores, assim como um menor sinal de fundo para cádmio na amostra sólida (Fig. 18f). A temperatura de atomização, usando padrão aquoso e o fígado bovino (NIST SRM 1577b), foi fixada em 2000 °C, baseando-se na sensibilidade e forma do sinal analítico.



**Figura 18** - Perfis de absorvância de chumbo (a, b, c, d) e cádmio (e, f) em padrões aquosos e no fígado bovino (NIST SRM 1577b); (a, c): 2 ng de Pb; (e): 0,05 ng de Cd; (b, d, f): fígado bovino (NIST SRM1577); (a, b): modificador Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100; (c, d, e, f): modificador Pd/Mg/Triton X-100. Ta = 2000 °C; Cd – Tp = 900 °C; Pb (Tp = 900 °C, modificador Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/Triton X-100; Tp = 1000 °C, modificador Pd/Mg/Triton X-100);

### 5.3.3. Erros de amostragem

Luecker e Schuierer [131] descreveram o uso de amostragem sólida para *screening* de Pb em tecidos de animais *in natura*; os erros analíticos resultantes da perda de água antes da análise foram investigados em diferentes temperaturas. Esses autores observaram que após um período de estabilização, as perdas de massa pareciam estar quase lineares e independentes da pesagem para massas de até 20 mg. Por meio de uma função utilizando o tempo de estabilização e perdas de massa, um aumento de 10% na concentração do analito foi encontrado para massas menores de 0,06 mg. A temperatura também influenciou no erro. Depois desses estudos os autores concluíram que perdas de massa em matrizes com alto conteúdo de água são uma fonte de erro menor, mas eles recomendaram algumas precauções para esta aplicação, tais como: amostragem rápida, evitando massas de amostra menores de 0,07 mg, e controle da temperatura no laboratório .

Neste trabalho os erros de amostragem e a influência da massa de amostra foram investigados com duas amostras de fígado bovino, uma de músculo caprino e uma de fígado suíno, todas *in natura*. Estas amostras foram homogeneizadas antes da análise como descrito na secção experimental 3.5.2.2., para eliminar a influência da possível heterogeneidade da distribuição do metal no fígado e músculo. Este procedimento foi considerado adequado por ser o mesmo adotado pelo PNCR, para avaliar a contaminação individual e para realizar um *screening* visando identificação de áreas poluídas do meio ambiente. Esse procedimento facilita a comparação dos resultados com o método de referência adotado pelo Ministério da Agricultura [133]. Imediatamente depois da homogeneização, porções de amostra foram guardadas em sacos plásticos pequenos e limpos. Todo ar foi removido e a embalagem foi bem fechada para evitar perdas de umidade. A embalagem foi aberta somente no momento da pesagem para análise no GF AAS. Este procedimento reduz o risco de perdas de umidade antes da amostragem. Obviamente, a homogeneização não é necessária para análises de *screening*, e poderia até mesmo ser contra-produtiva, uma vez que não permitiria detectar contaminação devido a amostragem ou estocagem.

A fim de avaliar os erros de pesagem, parte das amostras *in natura* foi seca para eliminar a umidade e pesada até peso constante. As amostras de carne *in natura* investigadas continham em torno de  $27 \pm 2\%$  de umidade ( $n=3$ ). As concentrações de cádmio e chumbo para as amostras secas foram corrigidas para peso úmido da amostra, a fim de expressar os resultados em  $\mu\text{g}$  por g de substância *in natura* ( $\mu\text{g g}^{-1}$  *in natura*) e os dois métodos poderem ser comparados.



Em concordância com Lucker e Schuierer [131] uma pequena variação de massa das amostras *in natura* durante a pesagem foi observada devido perda de umidade. No entanto, mantendo a amostra no refrigerador (em torno de 4 °C) e a temperatura do laboratório em torno de 20-25 °C, este efeito pode ser minimizado. A estratégia utilizada neste trabalho para a pesagem das amostras foi de manter o primeiro peso, desconsiderando a perda de peso devido a perda de umidade, assim como proposto Lucker e colaboradores.

Quando a meta de um trabalho é obter resultados rápidos, é essencial estabelecer o número mínimo de medidas garantido um resultado final com qualidade requerida. No entanto, se a exatidão é prioridade um caminho para o decréscimo da incerteza é aumentar os números das medidas. A Tabela XIV mostra o CV das medidas de chumbo e cádmio em três e quatro amostras, respectivamente, com diferentes características e concentrações dos analitos. Considerando a complexidade da matriz biológica e o uso de amostras de carne *in natura* os CV (s)<sub>s</sub> encontrados podem ser considerados aceitáveis. Os CV (s) foram obviamente melhores para as amostras com maiores concentrações de chumbo (BL1 e BL2). O CV obtido para a amostra PL foi alto (em torno de 20%) o que pode ser atribuído ao alto sinal de fundo, devido a uma maior quantidade de amostra a ser introduzida no forno por causa da baixa concentração do analito nesta amostra.

**Tabela XIV** – Coeficientes de variação das medidas de cádmio e chumbo em amostras de carne usando diferentes modificadores; todas as misturas de modificadores contém Triton X-100.

Analito	Amostra	Faixa de massa / mg	<i>in natura</i>		Seca	
			CV / % (n = 10)		CV / % (n = 6)	
			Pd/Mg	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Pd/Mg	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
Pb	BL1	2,2-2,6	12	8,4	9,1	13
	BL2	2,2-2,8	10	9,3	7,7	11
	PL	3,3-9,3	23	19	20	17
Cd	BL1	0,37-2,0	15	-	11	-
	BL2	0,85-1,8	7,1	-	7,1	-
	PL	0,30-1,3	15	-	8,1	-
	GM	0,15-0,42	17	-	4,3	-

Para cádmio o maior CV foi encontrado para a amostra GM (17%), mas pela razão oposta. Esta amostra tem uma alta concentração de cádmio, limitando a massa de amostra que pode ser pesada para dar um sinal dentro da faixa linear de resposta. Baseando-se nos dados da Tabela XIV, pode se concluir que o melhor CV foi obtido quando a faixa de massas analisadas foram em torno de 1-3 mg, para ambos os elementos. A média do CV de 14% para ambos, cádmio e chumbo, em amostras de carne *in natura* está em concordância com os valores reportados para análises de carne *in natura* [152] e com a análise direta de sólidos para amostras secas/moídas. Deve-se enfatizar que segundo Belarra *et al.* [153], especificamente para a proposta de *screening*, dez medidas são normalmente suficientes, e em muitas ocasiões, não são necessárias mais do que cinco medidas. Os autores concluíram que quanto maior o número de medidas durante a análise obtêm-se menores CV, consequentemente a exatidão da análise é aumentada.

#### 5.3.4. Figuras de mérito

A calibração tem sido freqüentemente considerada um problema em SS-GF AAS por causa dos processos de vaporização do analito e da atomização que depende da forma em que o analito esta presente no padrão e amostra, e que pode ser afetada pela matriz. Calibração usando um ou mais CRM sólidos, além de ser caro não é recomendado para análise de rotina e também contribui significativamente para a imprecisão, pois a incerteza dos valores certificados também é introduzida na calibração. No entanto, vários estudos têm mostrado que a calibração com padrões aquosos pode ser usada facilmente na SS-GF AAS depois de uma cuidadosa otimização do programa de temperatura [3].

Neste trabalho a calibração usando padrões aquosos foi checada *versus* os resultados para CRM (s), como será mostrado mais adiante. As curvas analíticas foram estabelecidas usando um branco e cinco soluções de referência na faixa de concentração de 50 – 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Pb (0,5 – 2 ng de Pb) e 2,5 – 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Cd (0,025 – 0,1 ng de Cd) em 0,014 mol  $\text{L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$ . As equações de regressão linear, o coeficiente de correlação (R) e a massa característica ( $m_0$ ) obtidas para cádmio e chumbo estão apresentados na Tabela XV.

Os limites de detecção (LD) e o de quantificação (LQ), definidos como a concentração do analito correspondendo ao sinal de absorvância integrada equivalente a três e dez vezes o desvio padrão do branco, respectivamente, estão mostrados na Tabela XV. As medidas do branco na amostragem sólida foram feitas segundo a técnica ‘resposta de massa zero’ [13],

introduzindo repetidamente a plataforma de amostragem sólida contendo somente o modificador, seguido por um ciclo de atomização regular.

**Tabela XV** - Figuras de mérito para a determinação chumbo e cádmio por GF AAS; todas as misturas dos modificadores contém Triton X-100.

Analito	Modificador	Equação de regressão linear	R	M <sub>0</sub> / pg	LD <sup>a</sup> (n=10) / µg kg <sup>-1</sup>	LQ <sup>a</sup> (n=10) / µg kg <sup>-1</sup>
Pb	Pd/Mg	A = 0,0205 + 0,325m	0,9983	10	1,9	6,2
	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	A = 0,0433 + 0,340m	0,9981	11	2,6	8,6
Cd	Pd/Mg	A = 0,0317 + 7,406m	0,9937	0,5	0,13	0,45

<sup>a</sup> baseado na técnica “resposta de massa zero” e calculado para 10 mg de amostra.

Os valores de m<sub>0</sub>, LD e LQ estão em concordância com os valores reportados na literatura para ambos os elementos [125] e são bem menores do que os níveis máximos de chumbo (0,50 mg kg<sup>-1</sup> de Pb em rim bovino, suíno e eqüino) e cádmio (0,20 mg kg<sup>-1</sup> de Cd em músculo eqüino e 1,00 mg kg<sup>-1</sup> Cd em rim bovino e suíno) respectivamente, estabelecidas pelas normas brasileiras [112].

### 5.3.5. Resultados analíticos

A viabilidade do uso da calibração usando padrões aquosos foi investigada através da determinação de cádmio e chumbo em dois CRM (s), de fígado bovino (NIST 1577b) e músculo bovino (NBS 8414), e na amostra liofilizada e moída (LS) de fígado bovino previamente analisado por SS-GF AAS [125]. Os resultados estão apresentados na Tabela XVI. Para chumbo o uso de Pd/Mg como modificador apresentou melhores resultados, mas os resultados obtidos com os dois modificadores não foram significativamente diferentes em relação aos valores dos certificados a um nível de confiança de 95% quando foi aplicado o teste *t-student* pareado. Os mesmos resultados estatísticos foram obtidos para cádmio.

**Tabela XVI** - Determinação de chumbo e cádmio em materiais de referência de carne por SS-GF AAS e calibração versus padrões aquosos (n=6); todas as misturas dos modificadores contêm Triton X-100.

Amostra	Concentração de Pb / mg kg <sup>-1</sup>			Concentração de Cd / mg kg <sup>-1</sup>	
	Valor Certificado	Pd/Mg	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Valor Certificado	Pd/Mg
SRM 8414	0,38 ± 0,24	0,33 ± 0,054	0,33 ± 0,043	0,013 ± 0,011	0,008 ± 0,005
SRM 1577b	0,129 ± 0,04	0,12 ± 0,033	0,11 ± 0,021	0,50 ± 0,03	0,43 ± 0,02
LS	0,24 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,024	0,28 ± 0,031	0,071 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,075 ± 0,004

<sup>a</sup> Referência [125].

A boa concordância entre os resultados confirma a possibilidade de que padrões aquosos podem ser usados para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de carne *in natura* com a técnica proposta.

A fim de obter informação sobre a exatidão da SS-GF AAS para a determinação de cádmio o chumbo em carne *in natura*, foram realizadas comparações dos métodos. Primeiro, a técnica de SS-GF AAS foi aplicada para a análise de amostras secas/móidas uma vez que os dados obtidos com os materiais de referência demonstraram essa viabilidade, como apresentado na Tabela X e de acordo com a literatura [125]. A fim de comparar os resultados obtidos para as concentrações de chumbo e cádmio nas amostras *in natura*, as concentrações obtidas para as amostras secas foram corrigidas para peso úmido, como descrito anteriormente. Os resultados obtidos para as amostras *in natura* e secas analisadas por SS-GF AAS foram comparados com os resultados obtidos utilizando o método de digestão adotado pelo Ministério da Agricultura [133]. Os resultados obtidos usando os diferentes métodos estão resumidos na Tabela XVII e XVIII.

**Tabela XVII** - Resultados analíticos obtidos para chumbo em carne *in natura*, seca e digerida usando diferentes modificadores; todas as misturas dos modificadores contém Triton X-100.

		Concentração de Pb / mg kg <sup>-1</sup> <i>in natura</i> <sup>a</sup>		
Amostra	Modificadores	(média ± SD)		
		<i>in natura</i> (n = 10)	Seca (n = 6)	Digerida (n = 3)
BL1	Pd/Mg	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,002
	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,001
BL2	Pd/Mg	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,001
	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,001
PL	Pd/Mg	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,002
	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,001
GM	Pd/Mg	< 0,002	< 0,002	< 0,018
	Pd/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	< 0,003	< 0,003	< 0,010

<sup>a</sup> Todos os valores estão baseados no peso úmido (mg por kg de substância *in natura*)

**Tabela XVIII** - Resultados analíticos obtidos para cádmio em amostras de carne *in natura*, seca e digerida usando o modificador Pd/Mg/Triton X-100.

		Concentração de Cd / mg kg <sup>-1</sup> <i>in natura</i> <sup>a</sup>		
Amostra		(média ± SD)		
		<i>in natura</i> (n = 10)	Seca (n = 6)	Digerida (n = 3)
BL1		0,020 ± 0,003	0,019 ± 0,002	0,023 ± 0,001
BL2		0,042 ± 0,003	0,042 ± 0,003	0,038 ± 0,001
PL		0,072 ± 0,011	0,086 ± 0,007	0,093 ± 0,006
GM		0,17 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,17 ± 0,003

<sup>a</sup> Todos os valores estão baseados no peso úmido (mg por kg de substância *in natura*).

Todas as amostras apresentaram concentrações abaixo do nível máximo de cádmio e chumbo estabelecidos pelo programa de controle de resíduo de produtos de origem animal do Ministério da Agricultura do Brasil [133]. Com exceção de cádmio na amostra GM que anteriormente estava acima do valor estabelecido pela norma do PNCR de 2006 e que agora está no limite da nova legislação, de maio de 2009 [112]. Para chumbo, ambos os modificadores apresentaram bons resultados para carne *in natura* assim como para amostras secas e digeridas. O modificador Pd/NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> foi mais eficiente na redução do sinal de fundo, no entanto recomenda-se Pd/Mg uma vez que com esse modificador obtiveram-se melhores LDs devido aos valores de brancos mais baixos. Este modificador foi usado para a determinação de cádmio em amostras de carne *in natura*, secas e digeridas. Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada para os dados da Tabela XVII e mostrou que os resultados não são significativamente diferentes a um nível de confiança de 95%. A ANOVA foi também aplicada para os dados apresentados na Tabela XVIII, e os mesmos resultados estatísticos foram obtidos para cádmio. Todos os resultados foram satisfatórios para confirmar a aplicação do método em análise de rotina, e houve concordância entre o método proposto para a análise usando carne *in natura* e o método de referência, mostrando que o método proposto pode ser usado para este propósito.

#### **5.4. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM CARNE *IN NATURA* EM SUSPENSÃO USANDO GF AAS**

Como relatado anteriormente na seção 5.3., investigou-se o uso da técnica de SS-GF AAS para uma determinação, precisa e rápida, de chumbo e cádmio em carne *in natura*. As principais dificuldades associadas a este procedimento foram investigadas em detalhes. A comparação do método convencional de digestão e da amostragem direta de sólidos de amostras de carne *in natura* (secas ou moídas) possibilitou a conclusão de que o método proposto é apropriado para atender as recomendações do PNCR. O uso da amostragem por suspensão para esta aplicação, ainda não foi relatado, apesar de que poderia ser uma excelente alternativa para laboratórios que não possuem o acessório para SS. Além disso, o uso de TMAH para o preparo das suspensões com carne *in natura* deve possibilitar uma vantagem adicional, pois o teor de água deve melhorar a solubilização da amostra ajudando a obter suspensões homogêneas.

#### 5.4.1. Otimização do preparo da suspensão

Como citado na introdução (na secção1), o uso de TMAH para o preparo das suspensões oferece várias vantagens, principalmente para as amostras de origem animal que podem ser solubilizadas parcialmente ou totalmente como tem sido relatado por vários autores [123]. As suspensões obtidas neste trabalho foram completamente homogêneas para todas as amostras de carne *in natura* (fígado e músculo) utilizando até 40 mg de amostra, pelo menos 200  $\mu$ L de TMAH e 500  $\mu$ L de água. A solubilização não foi completa uma vez que as suspensões não ficaram completamente transparentes, no entanto, nenhum material particulado foi observado e pode-se analisá-las diretamente sem homogeneização. O mesmo comportamento não foi observado para as amostras liofilizadas RM e CRM, pois foram observadas sedimentações do material particulado. Neste caso foi necessária agitação manual com uma micropipeta antes de cada análise. Contudo, o preparo foi simples e rápido, não afetando no resultado da análise.

Um fator importante na técnica de suspensão é a quantidade de amostra utilizada no seu preparo. Elevadas quantidades de amostras não são recomendadas devido a dificuldade de introdução da suspensão no forno de grafite. Por outro lado, um grande número de partículas introduzidas no forno garante um menor erro de amostragem [154] e um aumento na sensibilidade. Os fatores limitantes são as dificuldades na pipetagem quando as suspensões são muito concentradas ou diluídas [155]. Devido às estes fatores da suspensão a concentração deve ser otimizada para se obter resultados adequados para a análise. A metodologia de superfície de resposta tem sido utilizada para determinar uma combinação ótima das variáveis e para estudar as suas interações nas análises de amostras em suspensão [156,157].

Conseqüentemente, neste trabalho o interesse de se utilizar a superfície de resposta tem como objetivo determinar a quantidade ótima de massa de amostra e de volume de TMAH, assim como encontrar uma faixa ótima de combinação destas variáveis. Para este fim foi escolhido chumbo como elemento teste, pois medi-lo em amostras de carne é muito mais crítico do que cádmio devido a uma pior relação sinal ruído observado para este elemento.

Segundo Neto e colaboradores [158], uma questão importante na metodologia de superfície de resposta é a escolha da faixa inicial de variação dos fatores, que determinará o tamanho do primeiro planejamento e conseqüentemente a escala de codificação e a velocidade relativa com que os experimentos seguintes se deslocarão ao longo da superfície de resposta.

Se a escolha da escala for muito ampliada o deslocamento seria muito rápido, podendo sair da região da superfície, e assim perder a oportunidade de descobrir a direção do ponto ótimo. O ideal é procurar escolher deslocamentos nem tão pequenos que não produzam efeitos significativos na resposta, nem tão grandes que varram faixas exageradas dos fatores.

Inicialmente, neste trabalho foram realizados estudos preliminares sobre a temperatura de pirólise e atomização com uma suspensão preparada com o máximo de amostra (40 mg) e mínimo volume de TMAH (200 µL). As medidas foram realizadas usando uma temperatura de atomização de 2000 °C e temperatura de pirólise de 800 °C.

Para executar o planejamento fatorial, os fatores escolhidos no estudo foram: massa de amostra (variando de 20 a 40 mg) e volume de TMAH (200 a 400 µL). O planejamento fatorial investigado foi de nível três e a superfície de resposta obtida foi baseada neste planejamento apresentado na Tabela XIX. Os experimentos realizados estão descritos na Tabela XIX, considerando os valores codificados e reais e os resultados obtidos na determinação de chumbo. A relação obtida entre massa de amostra (M), volume de TMAH (V) e concentração (C), considerando os valores codificados, estão ilustrados pela equação:

$$C = -0,4697 + 0,0454 * M - 9,1667E-5 * V - 0,0009 * M * M + 3,25E-5 * M * V - 1,1667E-6 * V * V$$

A resolução deste sistema de equação resulta em valores reais de massa de amostra de 30,09 mg, e volume de 378,6 µL de TMAH. A Figura 19 mostra a superfície de resposta obtida para concentração de chumbo (C) em função de M (massa) e V (volume). O experimento de número 6 é o mais próximo do máximo previsto. Baseando-se nestes resultados todos os posteriores experimentos foram realizados utilizando 30 mg de amostra e 380 µL de TMAH. Como será mostrado mais adiante essa condição foi aplicada com sucesso para a análise de cádmio nas mesmas amostras.

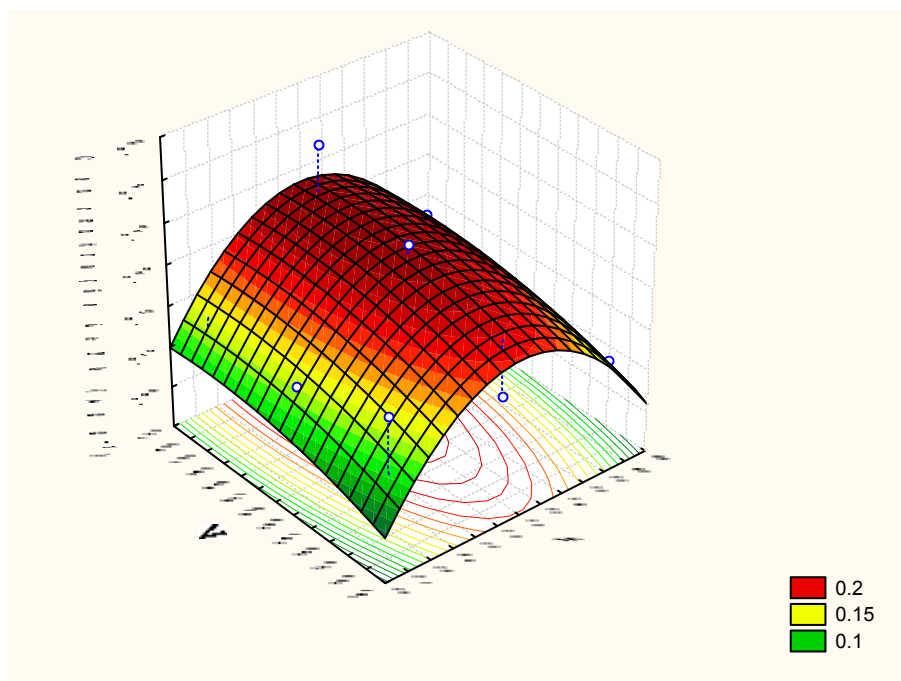


**Tabela XIX** - Resultados obtidos em um planejamento fatorial de nível três aplicado para determinação de chumbo em amostras de carne *in natura* em suspensão.

Experimento	M <sup>a</sup>	V <sup>b</sup>	Concentração de Pb / $\mu\text{g g}^{-1}$ (média $\pm$ SD) (n=6)
1	40 (+)	200 (-)	0,11 $\pm$ 0,03
2	40 (+)	300 (0)	0,13 $\pm$ 0,05
3	40 (+)	400 (+)	0,15 $\pm$ 0,05
4	30 (0)	200 (-)	0,13 $\pm$ 0,02
5	30 (0)	300 (0)	0,24 $\pm$ 0,06
6	30 (0)	400 (+)	0,29 $\pm$ 0,07
7	20 (-)	200 (-)	0,17 $\pm$ 0,06
8	20 (-)	300 (0)	0,13 $\pm$ 0,06
9	20 (-)	400 (+)	0,08 $\pm$ 0,02

<sup>a</sup>M – massa de amostra; <sup>b</sup>V - volume de TMAH.

A fim de verificar o tempo de estabilização da suspensão e do analito na suspensão, foram realizadas medidas consecutivas usando a composição otimizada da suspensão, descrita acima. As suspensões foram analisadas de hora em hora durante 8 horas. Depois, as suspensões foram mantidas durante a noite em copos do amostrador automático, fechados a temperatura ambiente e pela manhã as suspensões foram analisadas novamente. Os resultados mostraram que as suspensões com carne *in natura* permaneceram estáveis, por pelo menos durante 24 horas, sem qualquer alteração na concentração do analito.



**Figura 19** - Superfície de resposta da concentração de chumbo em função da massa de amostra (M) e volume de TMAH (V) para otimização do preparo da suspensão de carne *in natura*.

#### 5.4.2. Programa de aquecimento e modificador

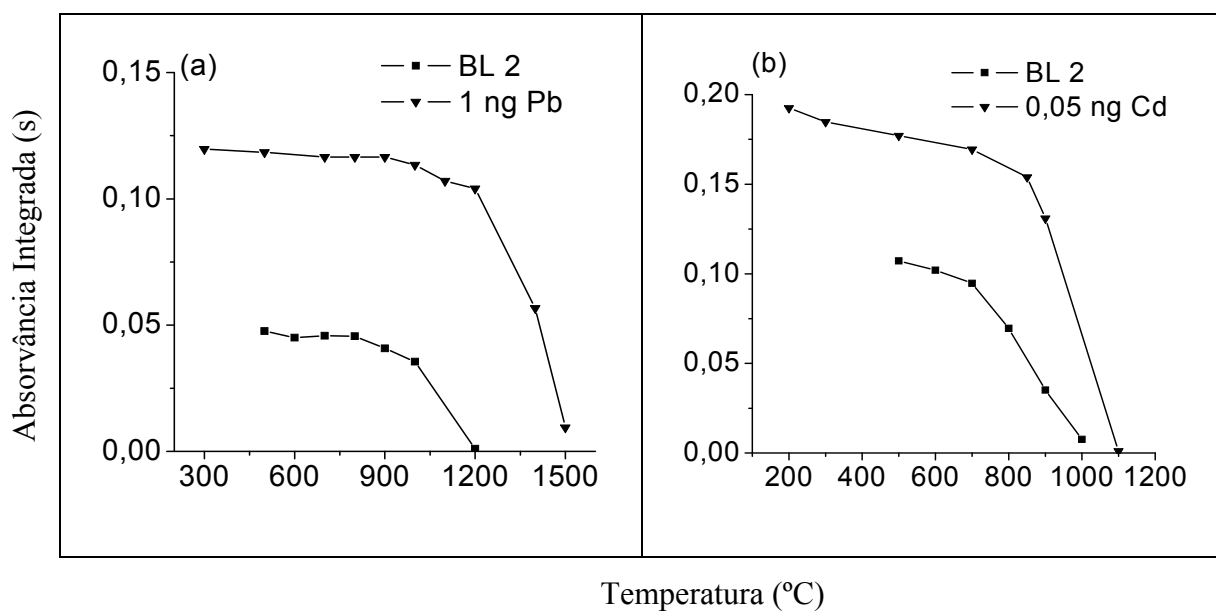
Como relatado nas seções anteriores referentes a modificadores, segundo Schlemmer e Welz [148] o modificador universal usado em GF AAS é a mistura dos sais paládio e magnésio. Essa mistura de paládio e magnésio vem mostrando-se eficaz para determinação de chumbo e cádmio em amostras reais e materiais de referência de carne e peixe em suspensão [119,159,160,149.161.162,163], à medida que a sua estabilização é altamente reprodutível. Neste trabalho, o modificador Pd/Mg tem sido aplicado com a adição de Triton X-100, como agente dispersante, para melhorar o contato entre a amostra e o modificador.

A suspensão do fígado bovino (BL2) com a composição otimizada anteriormente foi usada para estabelecer os parâmetros do programa de aquecimento. Primeiramente, foi necessário otimizar a etapa de secagem com as amostras de carne *in natura* em suspensão. A fim de alcançar uma completa remoção da água das amostras em suspensão, foi necessário usar no programa duas etapas de secagem com uma temperatura final 100 °C, com tempos longos de rampas e patamares como mostrado na Tabela VI. A Figura 20 (a) apresenta curvas de temperatura de pirólise para padrão aquoso de chumbo (1 ng) em uma solução de 0,014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> e para uma suspensão de uma amostra de carne *in natura* de fígado bovino

(BL2) com modificador. Para o fígado bovino (BL2) em suspensão, medidas confiáveis dos sinais do analito foram possíveis somente com temperaturas de pirólise superiores a 500 °C, devido aos elevados sinais de fundo em temperaturas menores.

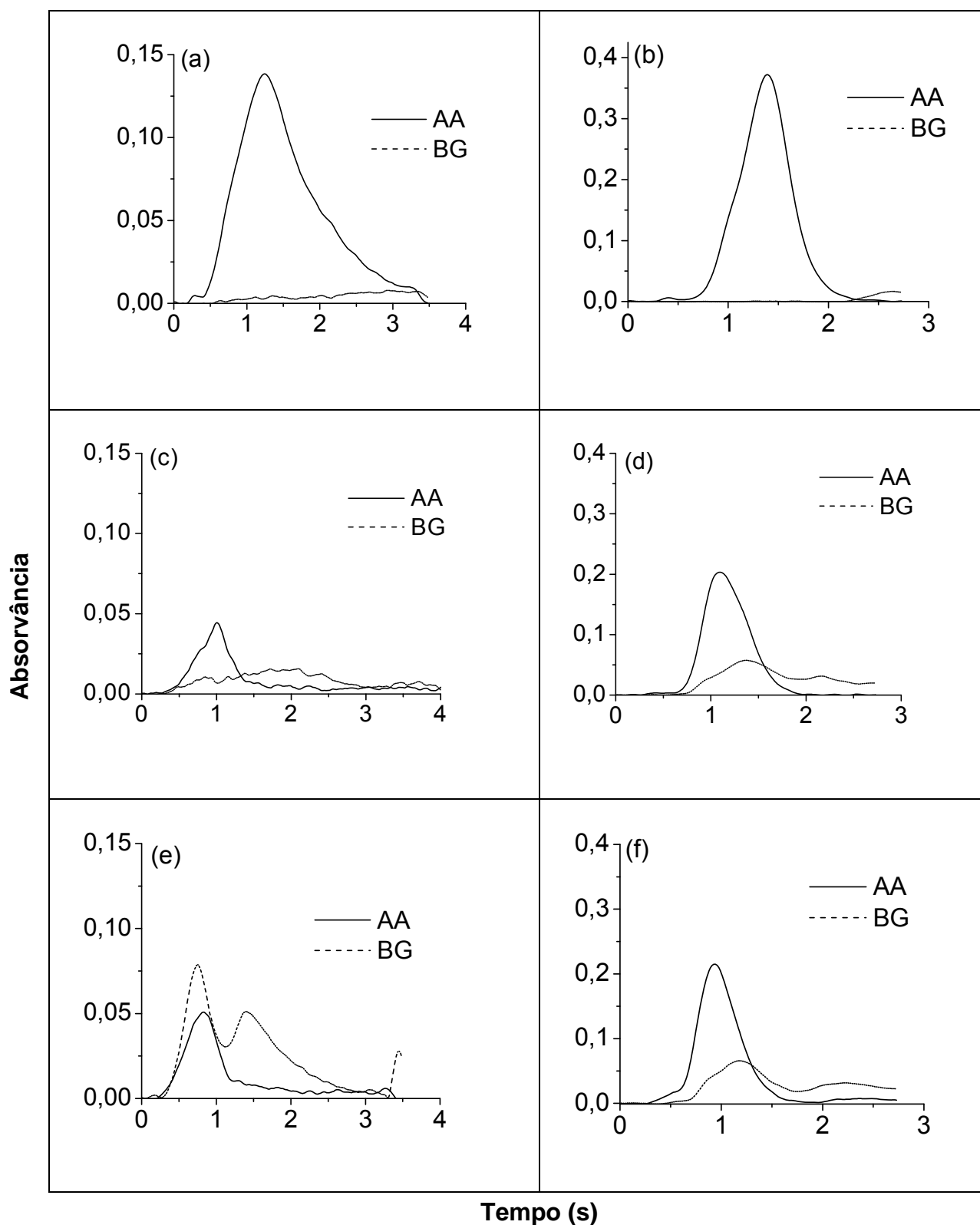
Esse fenômeno também foi observado e descrito no subitens 5.3.2. para a determinação de chumbo e cádmio em carne *in natura* por SS-GF AAS. A temperatura de pirólise, a mais elevada foi escolhida para remover ou minimizar os efeitos da matriz e sinais de fundo sem que ocorra perda do analito. Portanto, a temperatura de pirólise foi fixada em 800 °C, e foi usada para os futuros experimentos com soluções e suspensões. As curvas de temperatura de pirólise obtidas com o modificador Pd/Mg foram similares a obtida com o estudo realizados com carne *in natura* por SS-GF AAS descritos no subitens 5.3.2. No entanto, a temperatura de pirólise máxima foi menor do que a obtida no estudo anterior (subitens 5.3.2.). Este fato pode ser atribuído a diferença entre os atomizadores. A plataforma utilizada para SS é maior e mais pesada em relação à plataforma PIN, usada para líquidos. Portanto, devido a esta diferença deve ocorrer um atraso para que a temperatura da plataforma SS chegue na mesma temperatura atinja a plataforma PIN.

As curvas de temperatura de pirólise para cádmio em padrão aquoso (0,05 ng de Cd) e na amostra de fígado bovino *in natura* em suspensão (BL2) com modificador estão mostradas na Figura 20 (b). Observa-se que as curvas de temperatura de pirólise para cádmio são semelhantes às curvas de chumbo, temperaturas de pirólise inferiores a 500 °C não puderam ser utilizadas e o máximo de temperatura obtido foi menor do que o observado no estudo anterior para carne *in natura* em SS-GF AAS (subitens 5.3.2.). Para todos os futuros experimentos uma temperatura de pirólise 700 °C foi usada.



**Figura 20-** Curvas de temperatura de pirólise para chumbo (a) e cádmio (b) em solução aquosa e na amostra de carne *in natura* em suspensão (BL2) com Pd/Mg como modificador químico; Os dados para a amostra de petróleo BL2 são expressos em “absorvância integrada normalizada” para 1,0 mg de amostra;  $T_a = 2000\text{ }^\circ\text{C}$ .

A Figura 21 mostra os perfis de absorvância e sinais de fundo para chumbo e cádmio em padrões aquosos e na amostra de carne *in natura* em suspensão com TMAH. Neste caso, assim como na SS-GF AAS (subitens 5.3.2.), também pode ser observado um menor sinal de fundo para cádmio na suspensão. Uma temperatura de atomização de  $2000\text{ }^\circ\text{C}$  foi escolhida baseando-se na sensibilidade e forma dos sinais para ambos os analitos.



**Figura 21-** Perfis de absorbância para chumbo (a, c, e) e cádmio (b, d, f) em padrão aquoso: 1 ng de Pb (a) e 0,05 ng de Cd (b); CRM em suspensão (SRM1577) (c, d); amostra de carne *in natura* (BL2) em suspensão (e, f). Modificador químico: Pd/Mg. Pb:  $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ ; Cd:  $T_p = 700\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $T_a = 2000\text{ }^\circ\text{C}$ , para ambos os elementos.

### 5.4.3. Figuras de mérito

As curvas analíticas foram estabelecidas usando um branco e cinco soluções de referência na faixa de concentração de 50 – 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Pb (0,5 – 2 ng Pb) e 2,5 - 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Cd (0,025 – 0,1 ng Cd) usando as condições mencionadas anteriormente. A utilização de calibração usando padrões aquosos foi avaliada através dos resultados obtidos para CRM (s), como será mostrado mais adiante. Na Tabela XX estão apresentadas as equações de regressão linear, obtidas para chumbo e cádmio, usando uma curva analítica preparada em 0,014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> ou com TMAH. Essas curvas foram muito similares, indicando que padrões aquosos em 0,014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> pode ser usado para este propósito.

O coeficiente de correlação (R), a massa característica ( $m_0$ ), os limites de detecção (LD) e o de quantificação (LQ), obtidos para chumbo e cádmio estão mostrados na Tabela XX. Os valores e  $m_0$ , LD e LQ embora sejam bem maiores do que os valores obtidos por SS-GF AAS estão em concordância com os valores reportados na literatura para ambos os elementos [164,165] e estão bem abaixo dos níveis máximos de 0,20 e 0,10 mg kg<sup>-1</sup> para chumbo e cádmio, respectivamente, em carne bovina, suína e eqüina estabelecidas pelas normas brasileiras [112].

**Tabela XX-** Figuras de mérito para determinação de chumbo e cádmio por GF AAS.

Analito	Equação de regressão linear	R	$m_0$ / pg	LD <sup>a</sup> (n=10) / $\mu\text{g kg}^{-1}$	LQ <sup>a</sup> (n=10) / $\mu\text{g kg}^{-1}$
Pb	<sup>b</sup> A = 0,0154 + 0,1233m	0,9964	16	10,9	32,3
	<sup>c</sup> A = 0,01489 + 0,1361m	0,9996	-	-	-
Cd	<sup>b</sup> A = 0,0141 + 2,1463m	0,9991	2,0	3,84	12,8
	<sup>c</sup> A = 0,0234 + 2,2626m	0,9955	-	-	-

<sup>a</sup> baseado na suspensão de 30 mg de carne *in natura*; volume de 880  $\mu\text{L}$ .

<sup>b</sup> curva analítica com padrão aquoso em 0,014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>.

<sup>c</sup> curva analítica com padrão aquoso e TMAH.

#### 5.4.4. Erros de amostragem e influência da massa

Na determinação de metais em carne *in natura* por SS-GF AAS, relatada anteriormente no item 5.3., utilizou-se para a análise pequenas quantidades de amostra de carne *in natura*. Durante a pesagem foi observada uma variação da massa das amostras *in natura* devido à perda de umidade. A estratégia utilizada nesse trabalho para a pesagem das amostras foi de manter o primeiro peso. No entanto, na análise das amostras *in natura* em suspensão esta variação de massa não foi observado, devido a necessidade de utilizar-se uma quantidade de massa maior.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela XXI, calculou-se o CV das medidas para chumbo em três amostras com diferentes características e concentrações do analito. O CV médio obtido para chumbo foi 14%, para seis medidas de cada amostra. O CV foi alto, o que pode ser atribuído ao alto sinal de fundo observado, devido a baixa concentração do analito nestas amostras. Para cádmio o CV médio foi de em torno 4% (n=6), mas pela razão oposta. Considerando a complexidade da matriz biológica e o uso de amostras de carne *in natura*, os CV (s) encontrados podem ser considerados apropriados. Os CV (s) altos estão principalmente ligados as baixas concentrações do analito na matriz, no entanto estes valores de CV não irão inferir numa tomada de decisão, uma vez que esses valores estão muito abaixo do limite máximo permitido pela legislação.

#### 5.4.5. Resultados analíticos

A viabilidade do uso da calibração usando padrões aquosos foi investigada para a determinação de chumbo e cádmio em dois CRM (s), de fígado bovino (NIST SRM 1577b) e músculo bovino (NBS SRM 8414), e na amostra liofilizada e moída de fígado bovino (LS) previamente analisado por SS-ET AAS (subitem 4.4.2.). Os resultados usando os CRM (s) em suspensões estão resumidos na Tabela XXI. Para chumbo os resultados não foram diferentes em relação aos valores certificados a um nível e confiança de 95% quando foi aplicado o teste *t-student* pareado. Os mesmos resultados estatísticos foram obtidos para cádmio. A boa concordância entre os resultados confirma a possibilidade do uso de padrões aquosos para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de carne *in natura* com o procedimento proposto.

Os resultados obtidos com as amostras de carne *in natura* em suspensão foram comparados com o método de digestão adotado pelo Ministério da Agricultura. Os resultados

obtidos para cádmio e chumbo em amostras de carne *in natura* em suspensão estão resumidos na Tabela XXII.

**Tabela XXI-** Determinação de chumbo e cádmio em materiais de referência de carne em suspensão com TMAH usando GF AAS e calibração versus padrões aquosos (n = 6).

Amostra	Concentração de Pb / mg kg <sup>-1</sup>		Concentração de Cd / mg kg <sup>-1</sup>	
	Valor Certificado	Encontrado	Valor Certificado	Encontrado
SRM 8414	0,38 ± 0,24	0,31 ± 0,04	0,013 ± 0,011	0,012 ± 0,002
SRM 1577b	0,129 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,50 ± 0,03	0,39 ± 0,02
LS	0,240 ± 0,018 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,04	0,071 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,063 ± 0,005

<sup>a</sup> Referência [125].

**Tabela XXII-** Resultados analíticos obtidos para chumbo e cádmio em amostras de carne *in natura* em suspensão com TMAH e digeridas, usando o modificar Pd/Mg.

Amostra	Concentração de Pb / mg kg <sup>-1</sup> <i>in natura</i> <sup>a</sup>		Concentração de Cd / mg kg <sup>-1</sup> <i>in natura</i> <sup>a</sup>	
	(média ± SD)		(média ± SD)	
	Suspensão (n = 6)	Digerida (n = 3)	Suspensão (n = 6)	Digerida (n = 3)
BL1	0,100 ± 0,016	0,086 ± 0,002	0,024 ± 0,002	0,018 ± 0,001
BL2	0,091 ± 0,009	0,105 ± 0,001	0,036 ± 0,001	0,040 ± 0,001
PL	0,074 ± 0,008	0,055 ± 0,002	0,080 ± 0,001	0,093 ± 0,005
GM	< 0,004	< 0,018	0,225 ± 0,005	0,166 ± 0,003

<sup>a</sup> Todos os valores estão baseados no peso úmido (mg por kg de substância *in natura*).



Como comentado anteriormente, apenas a amostra GM apresentou-se com concentrações no limite do nível para cádmio estabelecido pelo atual, maio 2009, programa de controle de resíduo de produtos de origem animal da agricultura do Brasil [112].

As principais vantagens do preparo das amostras de carne *in natura* com TMAH foram a velocidade no preparo e uma completa ou parcial solubilização das amostras investigadas. As suspensões obtidas com este método foram homogêneas e apresentaram resultados satisfatórios para amostras de carne *in natura*. No entanto, para o CRM foi necessário agitação das suspensões entre cada medida, como descrito na parte experimental (subitens 4.5.2.3). O teste estatístico (*t-student* pareado) aplicado para os dados apresentados na Tabela XXII, entre os resultados obtidos para os métodos de digestão e suspensão para cádmio e chumbo, não foram significativamente diferentes a um nível de confiança de 95%. Todos os resultados apresentaram uma boa concordância entre o método proposto usando carne *in natura* em suspensão e o método de referência de digestão, mostrando que o método proposto pode ser usado para análise de rotina.

## 6. CONCLUSÃO

Pelos resultados apresentados neste trabalho, pode se concluir que o principal objetivo, a aplicação da técnica de SS-GF AAS para análise de amostras com alta viscosidade (petróleo) e com alto teor de umidade (carne *in natura*), foi alcançado com sucesso. Os métodos desenvolvidos foram satisfatórios em relação às técnicas tradicionais de análise direta de sólidos, pois foram aplicáveis a amostras não sólidas, de forma simples, rápida, precisa e exata. Além disso, estes métodos permitiram o emprego de padrões inorgânicos para a calibração, que são simples, apresentam baixo custo e as soluções não apresentam problemas de estabilidade.

Outros parâmetros importantes investigados neste trabalho foram a homogeneidade e a influência da massa de amostra nos erros de pesagem na análise direta (decorrentes da volatilidade e do teor de umidade do material pesado). Para ambas as amostras a homogeneidade e pesagem não afetaram nas medidas, comprovando a eficiência da análise direta de sólidos para estes tipos de materiais.

Em relação aos objetivos específicos para cada método investigado neste trabalho, segue abaixo as seguintes conclusões:

### ***Petróleo***

#### ***Níquel e vanádio***

- O procedimento proposto torna possível uma determinação exata de níquel e vanádio total e da fração termicamente estável em petróleo usando o mesmo programa de aquecimento do forno de grafite.
- A fração volátil, que consiste principalmente de complexos porfirínicos de níquel e vanádio não polar, podem ser determinados por diferença.
- A determinação da fração volátil de ambos os elementos em adição a concentração total deve ser considerada de particular importância, pois esses tipos de espécies são transportados nos processos de destilação para os produtos intermediários, tais como nafta e condensados do petróleo, e agem como envenenador catalítico.

- A qualidade de um petróleo poderia, portanto, ser melhor caracterizada pelo seu teor de níquel e vanádio volátil do que por sua concentração total, que não está correlacionada com as anteriores.
- A única desvantagem desta abordagem é que a fração mais importante é determinada por diferença e sofre incerteza de ambas as medidas.

### ***Chumbo***

- Os resultados exatos obtidos neste trabalho utilizando as duas técnicas propostas para determinação de chumbo em petróleo foram possíveis com o uso de padrões aquosos para calibração e do modificador convencional Pd/Mg.
- THFA GF AAS apresentou uma melhor sensibilidade, no entanto, com SS-GF AAS foi possível usar massas maiores de amostra, resultando em um mesmo LD. Além disso, os resultados com THFA GF AAS tiveram melhores CV do que SS-GF AAS, mas deve-se levar em consideração que a incerteza está embutida no preparo das emulsões, assim pode-se concluir que ambas as técnicas são eficientes para a proposta do trabalho.
- A determinação seletiva sem nenhum preparo de amostra, aliado ao uso de padrões aquosos para calibração, faz da SS-GF AAS adequado para aplicações de rotina.

Para a análise de petróleo por SS-GF AAS é imprescindível a significativa vantagem apresentada que é o fornecimento de resultados mais rápidos, uma vez que não é necessário um preparo de amostra. Assim, evita-se o uso de solventes orgânicos e reagentes, contribuindo para a química limpa. Espera-se que esta técnica possa ser aplicada para a determinação de outros elementos traço em petróleo.

### ***Carne in natura***

- Com o método proposto foi possível uma determinação exata de cádmio e chumbo em carne *in natura*. Esta determinação é rápida e sensível utilizando somente um simples procedimento de homogeneização, em conjunto com o uso de calibração com padrões aquosos. O procedimento é adequado para aplicação de rotina, evitando o procedimento de digestão usado para GF AAS ou o pré-tratamento de moagem e secagem adotado pela microanálise usando SS-GF AAS.

- A mistura de modificadores neste trabalho pode estabilizar ambos os analitos na amostra de carne *in natura* a uma temperatura de pirólise de no mínimo 900 °C, evitando perdas de analitos e resultados negativos.
- A análise das amostras de carne *in natura* pelo método proposto de suspensão, além de requerer pequenas quantidades de amostra e reagente, torna-se muito fácil o preparo da amostra e evita-se contaminação propensas das várias etapas da digestão. A utilização do método de superfície de resposta para a otimização do preparo da suspensão demonstrou que é possível encontrar uma faixa ótima experimental das variáveis em estudo. Os resultados positivos obtidos neste trabalho sugerem que composição pode ser utilizada com sucesso para estes elementos.
- Estes estudos mostram que a amostragem direta de sólidos ou o método de suspensão por GF AAS podem ser aplicados como um rápido procedimento de *screening* em um método de referência dentro do âmbito do programa brasileiro de controle de resíduo de produtos de origem animal, assistindo a implementação e manutenção do controle sanitário. Pode-se assumir que estes procedimentos podem ser aplicados para determinação a outros metais de interesse na carne e em produtos de carne desde que as concentrações estejam na faixa de concentração desta técnica.

Finalmente, pode-se concluir que a possibilidade de se realizar a análise direta de carne *in natura* e petróleo por GF AAS é algo inovador, pois é um procedimento analítico que oferece inúmeras vantagens em relação aos métodos convencionais utilizados. A ausência da manipulação de amostra faz da SS-GF AAS ideal para uma análise rápida e aplicações de rotina, com baixo custo.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- 
- [1] Araújo, G.C.L.; Nogueira, A.R.A.; Nóbrega, J.A.; *Analyst* **2000**, 125, 1861.
- [2] Chakraborty, R.; Das, A.K.; Cervera, M.L.; de la Guardia, M.; *J. Anal chem.* **1996**, 355, 99.
- [3] Vale, M.G.R.; Oleszczuk, N.; dos Santos, W.N.L.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2006**, 41, 377.
- [4] Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; Welz, B.; Lima, É.C.; *Spectrochim. Acta Part B* **2001**, 56, 10, 1859.
- [5] Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; Welz, B.; Nowka, R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, 17, 38.
- [6] da Silva, A.F.; Welz, B.; Curtius, A.J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, 57, 12, 2031.
- [7] Nomura, C.S.; Silva, C.S.; Nogueira, A.R.A.; Oliveira, P.V.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, 60, 5, 673.
- [8] da Silva, A.F.; Borges, D.L.G.; Lepri, F.G.; Welz, B.; Curtius, A.J.; Heitmann, U.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 382, 8, 1835.
- [9] Nóbrega J.A.; Costa L.M.; Santos D.M.; *Revista Analytica* **2002**, 1, 32.
- [10] Nomura, C.S.; Silva, C.S.; Oliveira, P.V; *Quim. Nova* **2008**, 31, 1, 104.
- [11] Magalhães, C.E.C.; Arruda, M.A.Z.; *Quim. Nova* **1998**, 21, 4, 459.
- [12] Cal-Prieto, M.J.; Felipe-Sotelo, M.; Carlosena, A.; Andrade, J.M.; Lopez-Mahia, P.; Muniategui, S.; Prada, D.; *Talanta* **2002**, 56, 1, 1.
- [13] Kurfürst, U.; *Solid sample analysis*, Springer, Berlin Heidelberg New York, **1998**, p. 21.
- [14] Iso Guia 35, Certification of Reference Materials General and Statistical Principles, ISO, Geneva, **1989**.
- [15] Oleszczuk, N.; Desenvolvimento de métodos analíticos de rotina para análise de grãos de café verde utilizando amostragem sólida por GF AAS, Dissertação de mestrado, UFRGS, Porto Alegre, **2008**.
- [16] DOQ-CGCRE-008 INMETRO, *Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos*, março de **2003**.
- [17] IUPAC; <http://old.iupac.org/publications/analytical-compendium>, acessada no dia 06 de junho de **2009**.
- [18] Jackson, K.W.; *Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry*, John Willey & sons, New york, **1999**.
- [19] Gary, D.C.; *Analytical Chemistry*; 3rd edn., Joh Wiley & Sons, **1977**, New York, p. 530.

- 
- [20] Seo, D.; Saiki, M.; Catharino, M. G. M.; Moreira, E.G.; Vasconcellos, M.B.A.; *2007 International Nuclear Atlantic Conference – INAC, 2007*, Santos, Brasil.
- [21] Leite, T.D.F.; Determinação de elementos principais, menores e traços em rochas via LA-ICP MS após preparação de alvos por fusão em boratos de lítio, Tese de doutorado, PUCRIO, Rio de Janeiro, **2006**.
- [22] Bichinho, K.M.; Desenvolvimento de método analítico para determinação de Mg, Ti, Cl em catalisadores Ziegler-Natta por WDXRF, Dissertação de mestrado, UFRGS, Porto Alegre, **2003**.
- [23] Folkman, F.; Fredriksen, F.; *Nucl. Instrum. Methods B.* **1990**, 49, 126.
- [24] Cunha e Silva, R. M.; Desenvolvimento da técnica de fluorescência de raios X com microsonda ( $\mu$ -XRF). Tese de doutorado, CENA, LIN, Piracicaba, **2002**.
- [25] Rios, F.J.; Fuzikawa, K.; Alves, J.V.; Gonçalves, R.M.; Chaves, A.O.; Souza, A.M.; Chaves, A.M.D.V.; Pereira, A.R.P.; Lima, T.A.F.; Neves, J.M.C.; Pérez, C.A.; Guillot, M.G.; Mattos, E.C.; Rosière, C.A.; *R. Esc. Minas, Ouro Preto* **2006**, 59, 4, 373.
- [26] Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. M. C.; Gonzaga, F. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 463.
- [27] Ebdon, L.; Foulkes, M.; Sutton, K.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 213.
- [28] Giné, M.F. *Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente*, Piracicaba: CENA, CPG/CENA **1998**, v.3.
- [29] Dulski, T. R.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 29R.
- [30] Jackson, K. W.; Chen, G.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 231R.
- [31] Russo, R. E.; Mao, X.; Liu, H.; Gonzales, J.; Mao, S. S.; *Talanta* **2002**, 57, 425.
- [32] Leite, T.D.F.; Determinação de elementos principais, menores e traços em rochas via LA-ICP MS após preparação de alvos por fusão em boratos de lítio, Tese de doutorado, PUCRIO, **2006**.
- [33] Carey, J.M.; Caruso, J.A.; *Anal. Chem.* **1992**, 23, 397.
- [34] Li, P. C.; Jiang, S. J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 385, 1092.
- [35] Vanhaecke, F.; Resano, M.; Moens, L.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, 374, 188.
- [36] Cabrera, C.; Lorenzo, M.L.; Lopez, M.C.; *J. AOAC* **1995**, 78, 1061.
- [37] Januzzi, S.B.G.; Drug, F.J.; Arruda, M.A.Z.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 375.
- [38] Mierzwa, J.; Sun, Y.C.; Chung, Y.T.; Yang, M.H.; *Talanta* **1998**, 47, 1263.
- [39] Engelsen, C.; Wibetoe, G.; *J. Anal. Chem.* **2000**, 366, 494.

- 
- [40] Miller-Ihli, N.J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1988**, 3, 73.
- [41] Miller-Ihli, N.J.; *J. Anal. Chem.* **1990**, 337, 271.
- [42] Welz, B.; Sperling, M.; *Atomic Absorption Spectrometry*; 3rd edn., Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, New York, p. 531.
- [43] Miller-Ihli, N.J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9, 1129.
- [44] Silva, M.M.; Vale, M.G.R.; Damin, I.C.F.; Welz, B.; Mandaji, M.; Fett, J.P.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 377, 165.
- [45] Welz, B.; Vale, M.G.R.; *Atomic Absorption Spectrometry and Related Techniques*, in J. Cazes (ed.), *Ewing's Analytical Instrumentation Handbook*, Marcel Dekker, New York, **2004**.
- [46] Welz et. al., B.; *High-Resolution Continuum Source AAS*, Wiley VCH, Darmstadt, **2005**.
- [47] Welz, B.; Vale, M.G.R.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 389, 2085.
- [48] Vale, M.G.R.; Damin, I.C.F.; Klassen, A.; Silva, M.M.; Welz, B.; Silva, A.F.; Lepri, F.G.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U. *Microchem. J.* **2004**, 77, 131.
- [49] Dittert, I.M.; Silva, J.S.A.; Araujo, R.G.O.; Curtius, A.J.; Welz, B.; Becker-Ross, H.; 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**, in press.
- [50] Borges, D.L.G.; Curtius, A.J.; Welz, B.; Heitmann, U.; *Revista Analytica* 2005, 18, 58.
- [51] Resano, M.; Rello, L.; Garcia-Ruiz, E.; Belarra, M.A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2007**, 22, 1250.
- [52] Ediger, R. D.; *Atomic Absorpt. Newsl.* **1975**, 14, 127.
- [53] Krug, F.J.; Nóbrega, J.A.; Oliveira, P.V.; *Apostila de Espectrometria de Absorção Atômica*, Parte 2. Atomização eletrotérmica em forno de grafite, maio de **2007**.
- [54] Butcher, D.J.; Sneddon, J.; *A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic*; John Wiley & Sons, Inc., **1998**.
- [55] Welz, B.; Schlemmer, G.; Mudakavi, J.R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, 7, 1257.
- [56] Ortner, H.M.; Bulska, E.; Rohr, U.; Schlemmer, G.; Weinbruch, S.; Welz, B.; *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, 57, 1835.

- 
- [57] Tsalev, D.L.; Slaveykova, V.I.; Madjukov, P.B.; *Spectrochim. Acta Rev.* **1990**, 13, 225.
- [58] Cabon, J.Y.; Le Bihan, A.; *Spectrochim. Acta* **1996**, 51B, 1245.
- [59] Froes, R.E.S.; Windmöller, C.C.; Silva, J.B.B.; *Revista Analytica* **2006**, 23.
- [60] Krug, F.J.; VI Workshop de preparo de amostras, Métodos de prepare de amostras, 6º edição, UFSM, abril de 2006.
- [61] Suryanarayana, C.; *Progress in materials science* **2001**, 46, 1.
- [62] Júnior, D.S.; Tomazelli, A.C.; Krug, F.J.; Nóbrega, J.A.; capítulo de livro, em Krug, F.J.; VI Workshop de preparo de amostras, Métodos de prepare de amostras, 6º edição, UFSM, abril de 2006.
- [63] Caumette, G.; Lienemann, C.P.; Merdrignac, I.; Bouyssiére, B.; Lobinski, R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, 24, 263.
- [64] Duyck, C.; Miekeley, N.; Silveira, C.L.P.; Szatmari, P.; *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, 57, 1979.
- [65] Environmental Protection Agency-<http://www.epa.gov/OEM/content/learning/crude.htm>, acessado no dia 06 de junho de **2009**.
- [66] Burguera, J. L.; Avila Gómez, R. M.; Burguera, M.; Salager, R. A.; Bracho, C. L.; Burguera-Pascu, M.; Burguera-Pascu, C.; Brunetto, R.; Gallignami, M.; Peña, Y, P.; *Talanta* **2003**, 61, 353.
- [67] Hardaway, C.; Sneddon, J.; Beck, J.N.; *Analytical Letters* **2004**, 17, 37, 2881.
- [68] Lienemann, C.P.; *Oil & gas science and technology-revue de l institut francais du petrole* **2005**, 60, 6, 951.
- [69] Annual Book of ASTM Standards, D5863 - Standard Test Methods for Determination of Nickel, Vanadium, Iron and Sodium in Crude Oils and Residual Fuels by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **1995**, 14.02, 1144.
- [70] Annual Book of ASTM Standards, D5708 - Standard Test Methods for Determination of Nickel, Vanadium and Iron in Crude Oils and Residual Fuels by Inductively Coupled Plasma (ICP) Atomic Emission Spectrometry. **1995**, 05.03, 905.
- [71] Kumar, S.J.; Gangadharan, S.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, 14, 967.
- [72] Nam, S.H.; Lim, J.S.; Montaser, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9,1357.
- [73] Liu, H.; Montaser, A.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3233.
- [74] Al-Swaiden, H.M.; *Talanta* **1996**, 43, 1313.



- 
- [75] Peters, G.R.; Beauchemin, D.; *J. Anal. Chem.* **1993**, 65, 97.
- [76] Saint’Pierre, T.D.; Dias, L.F.; Maia, S.M.; Curtius, A.J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2004**, 59, 4, 551.
- [77] Saint’Pierre, T.D.; Dias, L.F.; Pozebon, D.; Aucelio, R.Q.; Curtius, A.J.; Welz, B.; *Spectrochim. Part B* **2002**, 57, 12, 1991.
- [78] Escobar, M.P.; Smith, B.W.; Winefordner, J. D.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 320, 1, 11.
- [79] Heilmann, J.; Boulyga, S.F.; Heumann, K.G.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, 24, 4, 385.
- [80] Sperling, M.; Welz, B.; Hertzberg, J.; Rieck, C.; Marowsky, G.; *Spectrochim. Acta Part B* **1996**, 51, 9-10, 897.
- [81] Hammond, J.L.; Lee, Y.L.; Noble, C.O.; Beck, J.N.; Proffitt, C.E.; Sneddon, J.; *Talanta* **1998**, 47, 261.
- [82] Lang, I.; Sebor, G.; Sychra, V.; *Chemicke Listy* **1990**, 84, 1, 54.
- [83] Aucélio, R.Q.; Doyle, A.; Pizzorno, B.S.; Tristão, M.L.B.; Campos, R.C.; *Microchem. J.* **2004**, 78, 21.
- [84] de Souza, R.M.; Meliande, A.L.S.; da Silveira, C.L.P.; Aucélio, R.Q.; *Microchem. J.* **2006**, 82, 137.
- [85] Bruhn, C.; Cabalin, V.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, 147, 193.
- [86] Dias, F.S.; dos Santos, W.N.L.; Costa, A.C.S.; Welz, B.; Vale, M.G.R.; Ferreira, S.L.C.; *Microchim. Acta* **2007**, 158, 321.
- [87] Kowalewska, Z.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, 62, 273.
- [88] Damin, I.C.F.; Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; Welz, B.; Lepri, F.G.; dos Santos, W.N.L.; Ferreira, S.L.C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2005**, 20, 1332.
- [89] Aucélio, R.Q.; Curtius, A.J.; Welz, B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, 15, 1389.
- [90] Santelli, R.E.; Bezerra, M.A.; Freire, A.S.; Oliveira, E.P.; de Carvalho, M.D.B.; *Fuel* **2008**, 87, 8-9, 1617.
- [91] Reimer, R.A.; Miyazaki, A.; *Anal. Sci.* **1993**, 9, 157.
- [92] Murillo, M.; Chirnost, J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9, 237.
- [93] Damin, I.C.F.; Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de níquel e vanádio em petróleo por GF AAS, Dissertação de mestrado, UFRGS, Porto Alegre, **2005**.
- [94] Márquez, N.; Ysambertt, F.; De la Cruz, C.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 395, 343.

- 
- [95] Lepri, F. G.; A Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua como Ferramenta Analítica para o Desenvolvimento de Método para a Determinação de Níquel e Vanádio por GF AAS em Amostras de Óleo Cru, Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, **2005**.
- [96] Das, A.K.; Chakraborty, R.; Cervera, M.L.; De la Guardia, M.; *Microchim. Acta* **1996**, 122, 209.
- [97] Manning, D.C.; Slavin, W.; *Spectrochim. Acta*. **1985**, 40B, 461.
- [98] Matousek, J.P.; Powell, H.K.; *Spectrochim. Acta*. **1988**, 43, 167.
- [99] Wndl. W.; Muller-Vogot, G.; *Spectrochim. Acta*. **1985**, 40B, 527.
- [100] Luz, R.C.S.; Silva, L.M.S.; Lopes, G.S.; Marques, A.B.; Marques, E.P.; *Revista Analytica* **2003**, 7, 48.
- [101] Bermejo-Barrera, P.; Beceiro-Gonzalez, E.; Bermejo-Barrera, A.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 23, 475.
- [102] Vasileva, V.A.; Grinshtein, I.L.; Kastkov. D.A.; *J. Anal. Chem.* **1993**, 48, 8, 947.
- [103] Katskov, D.A.; McCrindle, R.I.; Schwarzer, R.; Marais, P.J.J.G.; *Spectrochim. Acta Part B* **1995**, 50,13, 1543.
- [104] Katskov, D.A.; Schwarzer, R.; Marais, P.J.J.G.; McCrindle, R.I.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9, 3, 431.
- [105] Katskov, D.A.; Marais, P.J.J.G.; Katkovnik, V.J.; Tittarelli. P.; *Spectrochim. Acta Part B* **1997**, 52, 9-10, 1377.
- [106] Katskov, D.A.; Marais, P.J.J.G.; Tittarelli. P.; *Spectrochim. Acta Part B*, **1996**, 51, 10, 1169.
- [107] Katskov, D. A.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, 62, 897.
- [108] Brandão, G.P.; Campos, R.C.; Castro, E.V.R.; Jesus. H.C.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 386, 2249.
- [109] Brandão, G.P.; Campos, R.C.; Castro, E.V.R.; Jesus. H.C.; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, 62, 9, 962.
- [110] Pituco, E.M.; *A importância da Febre Aftosa em Saúde Pública*. <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Pituco-FMD-saudepublica.pdf>- acessado em 19 de junho de 2008.
- [111] Valdes, C.; *Brazil Emerges as Major Force in Global Meat Markets*. AmberWaves-United States Department of Agriculture-Economic Research

- 
- Service, 2006, 4, 2. <http://www.ers.usda.gov/AmberWave> - acessado em 04 de dezembro, **2006**.
- [112] Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal-PNCR. Diário oficial da união de 28.05.**2009**.
- [113] Korn, M.D.A.; Morte, E.S.D.; dos Santos, D.C.M.B.; Castro, J.T.; Barbosa, J.T.P.; Teixeira, A.P.; Fernandes, A.P.; Welz, B.; dos Santos, W.P.C.; dos Santos, E.B.G.N.; Korn, M.; *Applied Spectrosc.* **2008**, 43, 2, 67.
- [114] Krug, F.J.; *Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Piracicaba, 1º edição, **2008**.
- [115] Mohamd, N.; Brow Jr., R.M.; Fry, R.C.; *Appl. Spectrosc.* **1981**, 35, 2, 153.
- [116] Mohamd, N.; Fry, R.C.; *Anal. Chem.* **1981**, 53, 3, 450
- [117] Fietkau, R.; Wichman, M.D.; Fry, R.C.; *Appl.Spectrosc.* **1984**, 38, 2, 118.
- [118] Lynch,S.; Littlejohn, D.; *Talanta* **1990**, 37, 8, 825.
- [119] Méndez, H.; Alava, F.; Lavilha,I.; Bendicho, C.; *J. AOAC* **2001**, 84, 6, 1921.
- [120] Mokgalaka, N.S.; Wondimu, T.; McCrindle, R.L.; *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **2008**, 22, 3, 313.
- [121] Baysal, A.; Tokman, N.; Akman, S.; Ozeroglu, C.; *Journal of Hazardous Materials* **2008**,150, 3, 804.
- [122] Afridi, H.I.; Kazi, T.G.; Arain, M.B.; Jamali, M.K.; Kazi, G.H.; Jalbani, N.; *J. AOAC* **2007**, 90, 2, 470.
- [123] Nóbrega, J.A.; Santos, M.C.; de Sousa, R.A.; Cadore, S.; Barnes, R.M.; Tatro, M.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2006**, 61, 465.
- [124] Kotulanová, A.; Komárek, J.; *Acta Chim. Slov.* **2002**, 49, 437.
- [125] Nomura, C.S.; Oliveira, P.V.; *Quím. Nova* **2006**, 29, 2, 234.
- [126] Lücker, E.; Gerbig, C.; Kreuzer, W.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1993**, 346, 1062.
- [127] Lücker, E.; Meuthen, J.; Kreuzer, W.; *Fresenius' Z.Anal. Chem.* **1993**, 346, 1068.
- [128] Lücker, E.; Rosopulo A.; Kreuzer, W.; *Fresenius' Z.Anal. Chem.* **1987**, 328, 4-5, 370.
- [129] Lücker, E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, 14, 1731.
- [130] Lücker, E.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, 14, 583.
- [131] Lücker, E.; Schuierer, O.; *Spectrochim. Acta Parte B* **1996**, 51, 2, 201.

- 
- [132] Amorim, F.A.C.; Lima, D.C.; Amaro, J.A.A.; Vale, M.G.R.; Ferreira, S.L.C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 8, 1566.
- [133] Método para análise de microelementos por GFAAS, N° 400/03, emissão 1985, revisão **2005**, Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento, Brasil.
- [134] Lepri, F.G.; Welz, B.; Borges, D.L.G.; Silva, A.F.; Vale, M.G.R.; Heitmann, U.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, 558, 195.
- [135] Kurfürst, U.; Rehnert, A.; Muntau, H.; *Spectrochim. Acta Part B* **1996**, 51, 229.
- [136] Berglund, M.; Baxter, D.C.; *Spectrochim. Acta Part B* **1992**, 47, 14, 1567.
- [137] Krivan, V.; Huang, M.D.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 24, 5312.
- [138] Hornung, M.; Krivan, V.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 16, 3444.
- [139] Z. Kowalewska, E. Bulska, A. Hulanicki, *Spectrochim. Acta Part B* **1999**, 54, 835.
- [140] Silva, I.A.; Campos, R.C.; Curtius, A.J.; Sella, S.M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, 8, 749.
- [141] Campos, R.C.; Santos, H.R.; Grinberg, P.; *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, 57, 15.
- [142] Reyes, M.N.M.; Campos, R.C.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, 60, 615.
- [143] Vasileva, V.A.; Grinshtein, I.L.; Kastkov, D.A.; *J. Anal. Chem.* **1993**, 48, 8, 947.
- [144] Norma da ABNT NBR ISO/IEC9000.
- [145] Borges, D.L.G.; da Silva, A.F.; Welz, B.; Curtius, A.J.; Heitmann, U.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, 21, 763.
- [146] Ribeiro, A.S.; Vieira, M.A.; da Silva, A.F.; Borges, D.L.G.; Welz, B.; Heitmann, U.; Curtius, A.J.; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**, 60, 693.
- [147] Stupar, J.; Dolinsek, F.; *Acta Chim. Slov.* **2004**, 51, 641.
- [148] Schlemmer, G.; Welz, B.; *Spectrochim. Acta Part B* **1986**, 41, 1157.
- [149] Bermejo-Barrera, P.; Aboal-Somoza, M.; Soto-Ferreira, R.M.; Dominguez-González, R.; *Analyst.* **1993**, 118, 665.
- [150] Penninckx, W.; Massart, D.L.; Semeyers-Verbek, J.; *J. Anal. Chem.* **1992**, 343, 6, 526.
- [151] Soares, M.E.; Bastos, M.L.; Ferreira, M.A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1993**, 8, 4, 655.
- [152] Lücker, E.; *J. Anal. Chem.* **1997**, 358, 848.
- [153] Belarra, M.A.; Resano, M.; Vanhaecke, F.; Moens, L.; *Anal. Chem.* **2002**, 21, 828.
- [154] Wibetoe, G.; Takuwa, D.T.; Lund, W.; Sawula, G.; *J. Anal. Chem.* **2000**, 363, 46.
- [155] Cid, B.P.; Silva, C.; Boía, D.; *Anal. Bional. Chem.* **2002**, 374, 477.

- 
- [156] Brown, J.H.; Gomez, M.J.; Benzo, Z.; Vaz, J.E.; *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1996**, 35, 239.
- [157] Sarkar, B.C.; Pandey, S.; Kumbhar, B.K.; Agrawal, Y.C.; *Journal of food science and technology-mysore* **2004**, 41, 6, 604.
- [158] Neto, B.B.; Scarminio, I.S.; Bruns, R.E.; *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*, editora da UNICAMP, Campinas, **2001**.
- [159] Januzzi, G.S.B.; Krug, F.J.; Arruda, M.A.Z.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 375.
- [160] Santos, C.; Alava-Moreno, F.; Lavilla, I.; Bendicho, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, 15, 987.
- [161] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Pinero, A.; Moreda-Pinero, J.; Bermejo-Barrera, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 301.
- [162] Acar, O.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 545, 2, 244.
- [163] Bosa Jr, E.C.L.; Krug, F.J.; Tavares, A.; *Talanta* **2002**, 57, 177.
- [164] Burylin, M.Yu.; Temerdashev, Z.A.; Burylin, S.Yu.; *J. Anal. Chem.* **2006**, 61, 1, 37.
- [165] da Silva, J.B.B.; Borges, D.L.G.; da Veiga, M.A.M.S.; Curtius, A.J.; Welz, B.; *Talanta* **2003**, 60, 977.

