

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Luciano de Almeida Pereira

Desenvolvimento de Metodologias Espectrométricas para
Determinação de Metais em Água, Sedimento e Peixe Empregando
Suspensões e Solubilização Alcalina

Belo Horizonte

2010

UFMG/ICEx/DQ.835

T.354^a

Luciano de Almeida Pereira

Desenvolvimento de Metodologias Espectrométricas para
Determinação de Metais em Água, Sedimento e Peixe Empregando
Suspensões e Solubilização Alcalina

Tese apresentada ao Departamento de
Química do Instituto de Ciências Exatas da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências - Química

Orientador: José Bento Borba da Silva

Belo Horizonte

2010

Pereira, Luciano de Almeida,

P436d Desenvolvimento de metodologias espectrométricas
2010 para determinação de metais em água sedimento e peixe
T empregando suspensões e solubilização
alcalina./Luciano de Almeida Pereira. 2010.

xx, 114 f. : il.

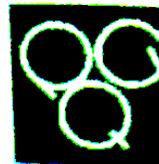
Orientador: José Bento Borba da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais. Departamento de Química.

Bibliografia p.106-114

1.Química analítica - Teses 2.Metals - Teses
3.Otimização multivariada - Teses 4.Solubilização
alcalina - Teses I.Silva, José Bento Borba da ,
Orientador II.Título

CDU 043



"Desenvolvimento de Metodologias Espectrométricas para Determinação de Metais em Água, Sedimento e Peixe Empregando Suspensões e Solubilização Alcalina "

Luciano de Almeida Pereira

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Cláudia Carvalhinho Windmöller
UFMG

Profa. Nívia Maria Melo Coelho
UFU

Prof. Frederico Garcia Pinto
UFV

Profa. Leticia Malta Costa
UFMG

Prof. Wagner da Nova Mussel
UFMG

Belo Horizonte, 07 de outubro de 2010.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e familiares por todo o apoio.

Ao meu orientador Professor Dr. José Bento Borba da Silva por toda a ajuda e pela inesgotável paciência.

À professora Dra. Cláudia Carvalhinho Windmüller pelas dicas.

Ao professor Dr. Waldomiro Borges Neto pela sua contribuição.

Ao professor Dr. Cláudio Luis Donnici pelas sugestões.

À COPASA, na pessoa do Químico Mauricio Costa, pelo suporte e apoio material.

Ao GEAPA pela estrutura, colaboração e momentos de trabalho e descontração.

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Aos demais professores e funcionários do Departamento de Química da UFMG.

Aos professores do Colégio Técnico da UFMG pela compreensão durante os momentos finais desta jornada.

Aos amigos que não são do meio acadêmico, mas que tiveram grande importância nesta etapa.

“O mal jamais se volta contra aquele que busca o conhecimento em nossa
moderna época de loucuras”

Friedrich W. Nietzsche

RESUMO

Palavra-chave: Metais, água, sedimento, peixe, ICP OES, GF AAS, otimização multivariada, solubilização alcalina

Neste estudo foram desenvolvidas metodologias para determinação de metais em águas empregando ICP OES (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado) e em sedimentos e peixes empregando GF AAS (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite). Por ICP OES determinou-se simultaneamente: Ag, Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, V e Zn em água tratada e água de manancial. Empregou-se Planejamento Fatorial Completo para obter a condição robusta de trabalho do ICP OES. As metodologias para determinação de metais em sedimentos e peixes foram desenvolvidas empregando-se modificador permanente para GF AAS. Para sedimentos, a otimização foi feita através de curvas de pirólise e atomização e para peixes a otimização foi feita por Planejamento Fatorial e Planejamento Composto Central (CCD). Determinou-se Cu, Mn, Ni, Sn e Zn em sedimentos na forma de suspensão. A suspensão foi preparada com a amostra seca, triturada e homogeneizada (garantindo tamanho de partículas < 65 µm) e uma mistura de H₂O₂ 3% v/v e HNO₃ 5% v/v. A suspensão foi mantida homogênea por meio do fluxo de ar criado por uma bomba de aquário. Os desvios padrões relativos percentuais na determinação de metais na suspensão de sedimentos foram sempre menores que 10%. Determinou-se Cd, Mn, Ni, Pb e Zn em peixes após solubilização com hidróxido de tetrametil amônio (TMAH) e Universol[®]. As soluções dos reagentes foram adicionadas sobre as amostras de peixes e mantidas em banho-maria a 60° C por 30 minutos. O processo de solubilização da amostra de peixe com o reagente Universol[®] foi completado antes do TMAH. Nenhuma das metodologias, seja por ICP OES ou GF AAS, apresentou efeito de matriz, possibilitando o uso de calibração aquosa, exceção feita à determinação de Fe em água de manancial e Mn em peixes. Os valores dos coeficientes de

correlação das curvas de calibração foram sempre maiores que 0,99 atestando a boa linearidade das metodologias. Os estudos de exatidão foram feitos com material de referência certificado ou amostras artificialmente contaminadas. Os valores de recuperação ficaram entre 80 e 120% para as amostras artificialmente contaminadas de água. Para a amostra de sedimentos NRCC PACS-2, o resultado encontrado e certificado para Sn, foram iguais a $19,1 \pm 2,8$ e $19,8 \pm 2,5$ $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. Para a avaliar a exatidão da metodologia para determinação de metais em peixes, utilizou-se a amostra NRCC TORT-2; o resultado encontrado e certificado para Cd, foram iguais a $21,5 \pm 0,8$ e $26,7 \pm 0,6$ $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. Os limites de quantificação (LOQ) alcançados foram adequados às exigências da legislação brasileira. Para o Cu em sedimentos conseguiu-se o valor de LOQ igual a $20,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ e o valor máximo permitido da legislação igual a $400 \mu\text{g kg}^{-1}$. Para o Cd em peixes, o valor de LOQ foi igual a $52,1 \mu\text{g kg}^{-1}$ e o valor máximo permitido da legislação igual a $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$.

ABSTRACT

Keywords: Metals, water, sediment, fish, ICP OES, GF AAS, multivariate optimization, alkaline solubilization

In this study methodologies were developed to determine metals in water employing ICP OES (Optical Emission Spectrometry with Inductively Coupled Plasma) and in sediment and fish employing GF AAS (Atomic Absorption Spectrometry with Graphite Furnace). By ICP OES were determined simultaneously: Ag, Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, V and Zn in tap water and spring water. Factorial design was employed to get the full robust working condition of ICP OES. Methodologies for determination of metals in sediment and fish were developed employing permanent modifier for GF AAS. For sediments, the optimization was done by pyrolysis and atomization curves and for fish the optimization was done by factorial design and central composite design (CCD). It was determined Cu, Mn, Ni, Sn and Zn in sediments in slurry. The slurry was prepared using a dry sample, crushed and homogenized (ensuring particle size $< 65 \mu\text{m}$) and a mixture of H_2O_2 3% v / v HNO_3 5% v / v. The slurry was kept homogeneous by means of air flow created by an aquarium pump. The percentage relative standard deviations in the determination of metals in slurries of sediments were always lower than 10%. It was determined Cd, Mn, Ni, Pb and Zn in fish after solubilization with tetra methyl ammonium hydroxide (TMAH) and Universol[®]. The solutions of reagents were added on the samples of fish and kept in a water bath at 60 °C for 30 minutes. The solubilization of the sample of fish with the reagent Universol[®] was completed before TMAH. None of the methods, either by ICP OES and GF AAS, presented matrix effect, enabling the use of aqueous calibration, except for the determination of Fe in spring water and Mn in fish. The values of correlation coefficients of calibration curves were always greater than 0.99 showing good linearity of the methodologies. Studies of accuracy were made with certified reference materials or spiked samples. The recoveries were between 80 and 120% for spiked samples of water. To sample the

sediment NRCC PACS-2, the result and certificate for Sn, were equal to 19.1 ± 2.8 and $19.8 \pm 2.5 \text{ mg kg}^{-1}$, respectively. To assess the accuracy of the methodology for determination of metals in fish, we used the NRCC TORT-2 sample, the results found and certified for Cd, were equal to 21.5 ± 0.8 and $26.7 \pm 0.6 \text{ mg kg}^{-1}$, respectively. The limits of quantification (LOQ) obtained were adequate to the requirements of Brazilian legislation. For Cu in sediments could be the value of LOQ equal to 20.5 mg kg^{-1} and the maximum amount permitted by legislation equal to 400 mg kg^{-1} . For Cd in fish, the value of LOQ was equal to 52.1 mg kg^{-1} and the maximum allowed value of legislation equal to 1000 mg kg^{-1} .

LISTA DE ABREVIATURAS E NOTAÇÕES

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA – do inglês “American Public Health Association” (Associação Americana de Saúde Pública)

BEC - do inglês “Background Equivalent Concentration” (Concentração de Equivalente de Sinal de Fundo)

CCD - do inglês “Composite Central Designer” (Planejamento Composto Central)

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

COPASA - Companhia de Saneamento de Minas Gerais

CV AAS – do inglês “Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry” (Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio)

DMF - Dimetilformamida

EIE - Elementos Facilmente Ionizáveis

EPA - do inglês “Environmental Protection Agency” (Agência de Proteção Ambiental)

ET AAS - do inglês “Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry” (Espectrometria de Absorção Atômica com atomização eletrotérmica)

ETV-ICP-MS – do inglês “Vaporization Electrothermal and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry” (Vaporização Eletrotérmica Acoplada a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)

FAAS - do inglês “Flame Atomic Absorption Spectrometry” (Espectrometria Atômica por Absorção em Chama)

GF AAS - do inglês “Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry” (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)

HG-ETV-ICP-MS - do inglês “Hydride Generation and Vaporization Electrothermal and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry” (Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado e Geração de Hidretos com Vaporização Eletrotérmica)

ICP OES - do inglês “Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry” (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC - do inglês “International Union of Pure and Applied Chemistry” (União Internacional da Química Pura e Aplicada)

LTE - do inglês “Local Thermal Equilibrium” (Equilíbrio Térmico Local)

LOD - do inglês “Limit of Detection” (Limite de Detecção)

LOQ - do inglês “Limit of Quantification” (Limite de Quantificação)

NIST - do inglês “National Institute of Standard and Technology” (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia)

NRCC - do inglês “National Research Council of Canada” (Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá)

OMS - Organização Mundial de Saúde

PTFE - Politetrafluoretileno

SBR - do inglês “Signal Background Ratio” (Razão Sinal Ruído)

TMAH - do inglês “Tetramethylammonium Hydroxide” (Hidróxido de Tetrametil Amônio)

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

VG-ET AAS - do inglês “Vapor Generation and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry” (Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica e Geração de Vapor)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de montagem da tocha de ICP OES Fonte: Skoog, 2002, p. 803 (adaptado).....	7
Figura 2. Esquema de montagem da tocha de ICP OES Fonte: Skoog, 2002, p. 803 (adaptado).....	8
Figura 3. Esquema de funcionamento de um equipamento ICP OES Fonte: Skoog, 2002, p. 705 (adaptado).....	9
Figura 4. Vista de um tubo com plataforma inserida no momento da deposição de uma solução sobre a plataforma.....	11
Figura 5. Vista da bomba de aquário com mangueira conectada diretamente no copo do amostrador automático.....	22
Figura 6. Suspensão de sedimento mantido em homogeneização durante a coleta da amostra pelo braço do amostrador automático.....	23
Figura 7. Curva de atomização e pirólise para determinação de Ni em sedimentos usando Rh como modificador.....	34
Figura 8. Gráfico de pareto para a otimização da condição robusta do ICP OES para determinação de metais em água.....	49
Figura 9. Otimização univariada da condição robusta do ICP OES para determinação de metais em água.....	50
Figura 10. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,0 s.....	64
Figura 11. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,1 s.....	65
Figura 12. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,2 s.....	65
Figura 13. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Cu em suspensões de sedimentos.....	67
Figura 14. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Mn em suspensões de sedimentos.....	68

Figura 15. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Ni em suspensões de sedimentos.....	69
Figura 16. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Sn em suspensões de sedimentos.....	71
Figura 17. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Zn em suspensões de sedimentos.....	72
Figura 18. Amostras de peixe solubilizadas com Universol [®] e TMAH.....	79
Figura 19. Sinal analítico na determinação de Pb em peixes por GF AAS sem uso de modificador.....	82
Figura 20. Sinal analítico na determinação de Pb em peixes por GF AAS usando Zr como modificador permanente.....	83
Figura 21. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	85
Figura 22. Superfície de resposta do CCD para otimização da determinação de Cd por GF AAS após solubilização alcalina.....	85
Figura 23. Gráfico de pareto para otimização do GF AAS na determinação de Mn em peixes após solubilização alcalina.....	87
Figura 24. Superfície de resposta do CCD para otimização do GF AAS na determinação de Mn em peixes após solubilização alcalina.....	89
Figura 25. Gráfico de pareto para otimização do GF AAS na determinação de Ni em peixes após solubilização alcalina.....	91
Figura 26. Curva de pirólise e atomização para determinação de Ni em peixes pro GF AAS após solubilização alcalina usando Rh como modificador permanente.....	92
Figura 27. Gráfico de pareto para otimização do GF AAS na determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	93
Figura 28. Superfície de resposta do CCD para otimização do GF AAS na determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	95
Figura 29. Gráfico de pareto com os resultados do planejamento fatorial para Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	97

Figura 30. Curva de pirólise e atomização para determinação de Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina usando Zr como modificador 99 permanente.....

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições operacionais do ICP OES na determinação de metais em amostras de água tratada e de manancial.....	25
Tabela 2. Linhas analíticas utilizadas na determinação de metais em água e as energias de ionização das linhas atômicas (I) e iônicas (II).....	26
Tabela 3. Concentração de elementos na solução intermediária usada para preparar as soluções da curva de calibração para determinar metais em água por ICP OES.....	28
Tabela 4. Matriz do planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da condição robusta de operação do ICP OES na determinação de metais em água.....	31
Tabela 5. Programa de temperatura do forno de grafite para tratamento com modificador permanente.....	31
Tabela 6. Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2^{4-1} na determinação de Cd, Pb e Zn em peixes por GF AAS.....	37
Tabela 7. Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2^3 na determinação de Mn e Ni em peixes por GF AAS.....	37
Tabela 8. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Cd em peixes por GF AAS.....	38
Tabela 9. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Mn em peixes por GF AAS.....	38
Tabela 10. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Pb em peixes por GF AAS.....	38
Tabela 11. Faixa de calibração para determinação dos constituintes inorgânicos em água por ICP OES.....	39
Tabela 12. Faixa de calibração para determinação dos constituintes inorgânicos por GF AAS.....	40
Tabela 13. Leituras realizadas com o planejamento fatorial 2^3 para otimização da condição robusta do ICP OES na determinação de metais em	

águas.....	48
Tabela 14. Condições otimizadas de operação do ICP OES na determinação de metais em águas.....	52
Tabela 15. Linhas analíticas alteradas de alguns elementos na determinação de metais em água por ICP OES.....	53
Tabela 16. Avaliação da inclinação das curvas de calibração e dos coeficientes de correlação linear na determinação de metais em água por ICP OES.....	54
Tabela 17. Valores de SBR, BEC e limites de detecção e quantificação para a determinação de metais em água por ICP OES.....	55
Tabela 18. Testes de recuperação para determinação de metais em águas por ICP OES.....	57
Tabela 19. Avaliação da exatidão com material de referência certificado 1643e na determinação de metais em água por ICP OES.....	59
Tabela 20. Valores de desvio padrão relativo para a determinação de metais em água por ICP OES.....	60
Tabela 21. Parâmetros instrumentais empregados do GF AAS da GBC para a construção de curvas de pirólise e atomização na análise de sedimentos....	63
Tabela 22. Programa de temperatura de forno otimizado univariadamente para determinação de metais em sedimentos por GF AAS	73
Tabela 23. Massas características obtidas para as melhores condições de temperaturas de pirólise e atomização na determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS.....	74
Tabela 24. Avaliação da inclinação das curvas de calibração aquosa e em diluente na determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS.....	75
Tabela 25. Limites de detecção e quantificação para determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS e valores máximos permitidos pela legislação brasileira.....	76
Tabela 26. Estudo de exatidão e precisão com material certificado para determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS.....	77

Tabela 27. Parâmetros operacionais do GF AAS Perkin Elmer nos estudos de determinação de metais em peixes.....	80
Tabela 28. Resultados da triagem de modificadores para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	81
Tabela 29. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	84
Tabela 30. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	86
Tabela 31. Planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da metodologia para determinação de Mn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	88
Tabela 32. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Mn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	90
Tabela 33. Planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da metodologia para determinação de Ni em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	91
Tabela 34. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	94
Tabela 35. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	96
Tabela 36. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	97
Tabela 37. Programa de temperatura de forno otimizado para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	100
Tabela 38. Avaliação da inclinação das curvas de calibração na determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina.....	100

Tabela 39. Limites de detecção e quantificação para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina e valores máximos permitidos pela legislação brasileira.....	101
Tabela 40. Estudo de exatidão e precisão com material certificado para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina...	102

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	i
Epígrafe.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Lista de abreviaturas e notações.....	vii
Lista de figuras.....	x
Lista de tabelas.....	xiii
Sumário.....	xvii
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 ÁGUA.....	2
2.2 SEDIMENTOS.....	3
2.3 PEIXES.....	5
2.4. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES).....	6
2.4.1 Otimização da condição robusta: Razão Mg II/ Mg I.....	9
2.5 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	10
2.5.1. Modificação química.....	12
2.5.2 Preparo de amostras.....	14
2.5.2.1 Preparo de suspensões para Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite.....	14
2.5.2.2 Solubilização em meio alcalino para Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite.....	15
2.5.3 Otimização multivariada.....	16
2.5.3.1 Planejamento Fatorial.....	16
2.5.3.2 Planejamento Composto Central.....	17
3. OBJETIVO GERAL E JUSTIFICATIVA.....	18
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	20

4.1 AMOSTRAS.....	20
4.1.1 Amostras de água.....	20
4.1.2. Sedimentos.....	20
4.1.3. Peixes.....	21
4.2 PREPARO DE AMOSTRAS.....	21
4.2.1 Amostras de água.....	21
4.2.2 Amostras de sedimentos.....	21
4.2.3 Amostras de peixes.....	23
4.3 INSTRUMENTAÇÃO E SOFTWARES.....	24
4.3.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado.....	24
4.3.1.1 Linhas analíticas selecionadas.....	25
4.3.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	25
4.3.3 Demais equipamentos e aparatos de laboratório.....	27
4.3.4 Software.....	27
4.4 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	27
4.5 MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO.....	29
4.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ÁGUA POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO.....	30
4.7 OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA...	31
4.7.1 Tratamento do tubo de grafite.....	31
4.7.2 Otimização das condições iniciais de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica.....	32
4.7.3 Otimização univariada para determinação de metais em sedimentos: Otimização do programa de forno.....	32
4.8 OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE PEIXES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	34
4.8.1 Tratamento de tubo de grafite.....	34

4.8.2 Otimização das condições iniciais de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica.....	35
4.8.3 Triagem dos modificadores usados na otimização multivariada.....	35
4.8.4 Otimização multivariada.....	36
4.9 PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO.....	39
4.9.1 Linearidade.....	40
4.9.2 Seletividade.....	41
4.9.3 Limite de detecção e Limite de quantificação.....	42
4.9.3.1 Cálculo de LOD e LOQ para as metodologias para determinação de metais em sedimentos e peixes por Espectrometria de Absorção Atômica.....	42
4.9.3.1 Cálculo de LOD e LOQ para as metodologias de determinação de metais em água por Espectrometria de Emissão Óptica.....	43
4.9.4 Exatidão.....	44
4.9.5. Precisão.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1 DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO.....	48
5.1.1 Otimização multivariada.....	48
5.1.2 Linearidade e seletividade (efeito de matriz).....	52
5.1.3 Limites de Quantificação e Detecção.....	54
5.1.4 Exatidão.....	56
5.1.4.1 Estudo de recuperação	57
5.1.4.2 Estudo de exatidão com material certificado.....	59
5.1.5 Precisão.....	60
5.1.5.1 Precisão inter dia e intra dia.....	60
5.1.5.2 Teste de estabilidade do plasma.....	62
5.2 DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	62

5.2.1 Otimização inicial das condições de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica.....	62
5.2.2 Otimização univariada das metodologias de determinação de metais em sedimentos.....	66
5.2.2.1 Metodologia para determinação de cobre em sedimentos.....	66
5.2.2.2 Metodologia para determinação de manganês em sedimentos.....	68
5.2.2.3 Metodologia para determinação de níquel em sedimentos.....	69
5.2.2.4 Metodologia para determinação de estanho em sedimentos.....	70
5.2.2.5 Metodologia para determinação de zinco em sedimentos.....	72
5.2.3 Parâmetros de mérito.....	73
5.2.3.1 Massa característica.....	74
5.2.3.2 Linearidade e efeito de matriz.....	75
5.2.3.3 Limites de Quantificação e Detecção.....	76
5.2.3.4 Exatidão e precisão.....	77
5.3 DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE PEIXES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE.....	78
5.3.1 Solubilização das amostras.....	78
5.3.2 Otimização inicial das condições de operação do GF AAS.....	79
5.3.3 Triagem dos modificadores usados na otimização multivariada.....	80
5.3.4 Otimização multivariada.....	83
5.3.4.1. Otimização para determinação de cádmio em peixes.....	84
5.3.4.2 Otimização para determinação de manganês em peixes.....	87
5.3.4.3 Otimização para determinação de níquel em peixes.....	90
5.3.4.4 Otimização para determinação de chumbo em peixes.....	93
5.3.4.5 Otimização para determinação de zinco em peixes.....	96
5.3.5 Linearidade e seletividade (efeito de matriz).....	100
5.3.6 Limites de Detecção e Quantificação.....	101
5.3.7 Exatidão e precisão.....	102
6. CONCLUSÃO.....	103
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	106

1. Introdução

Os metais se distribuem em todos os compartimentos da superfície terrestre. A atmosfera, a hidrosfera, os solos, a biosfera, os materiais artificiais criados pelo homem, em maior ou menor extensão, possuem metais em diferentes formas e associações (Azevedo, 2003). Os metais estão biodisponíveis em larga escala para o organismo humano, e esta biodisponibilidade pode ser potencializada devido às transformações realizadas pelo homem sobre o ambiente em que vive.

Para tentar evitar que a exposição aos metais exceda os limites considerados seguros à saúde da população, a legislação do Brasil estabelece limites máximos permissíveis destes constituintes inorgânicos em solos, sedimentos, alimentos, corpos d'água e água potável. A portaria nº 518 do Ministério da Saúde (MS) estabelece concentrações máximas de metais em água potável, e define valores de referência para outros constituintes orgânicos e inorgânicos (Brasil, Portaria nº 518, 2004). A resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) classifica os corpos d'água e estabelece o padrão de lançamento de efluentes (Brasil, Resolução nº 357, 2005). O CONAMA estabelece, também, os procedimentos para avaliação de sedimentos a serem dragados (Brasil, Resolução nº 344, 2005). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou uma portaria que define as concentrações máximas permitidas para contaminantes químicos em alimentos (Brasil, Portaria nº 685, 1998).

Considerando-se os aspectos listados acima, faz-se justificável a realização de estudos, como descrito neste trabalho, que têm como objetivo o desenvolvimento de metodologias para quantificar os metais em baixas concentrações em água, peixes e sedimentos. Os resultados do trabalho podem contribuir para realizar algum tipo de monitoramento sobre áreas que sofrem impacto antropogênicos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Água

A presença de metais em corpos d'água pode ser influenciada, principalmente, pelas atividades antropogênicas, como despejos de efluentes, e pelos processos naturais, como o intemperismo das rochas e a erosão dos solos. A forma como estes elementos se apresentam na água é influenciada por diversos fatores: solubilidade, pH, potencial redox, presença de materiais particulados, dentre outros. Os metais podem estar presentes na água em suas formas catiônicas livres ou complexados à matéria orgânica ou a outros ligantes (Esteves, 1988). Uma fração importante destes metais pode estar associada ao material particulado (Stumm, 1985).

Os metais podem representar riscos para a população que utiliza a água contaminada e causar prejuízos para a fauna e flora aquáticas (Azevedo, 2003). Vários exemplos são encontrados na literatura de estudos em regiões impactadas pela presença de metais em concentrações acima do nível considerado como tolerável. Habitualmente, esses locais se caracterizam pelo alto grau de urbanização. Em uma pesquisa sobre a presença de elementos traço em amostras de água de dois rios de uma região estuarina da província de Huelva, na Espanha, encontrou-se concentrações de Cu e Zn maiores que os limites recomendados pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) (Vicente-Martorell, 2009). Um estudo conduzido nas águas do Lago Pulicat, localizado em uma região industrial da Índia, encontrou concentrações de Cd, Cr e Pb iguais a 0,07; 11,4 e 3,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os analitos presentes nas amostras foram concentrados por procedimentos de extração líquido-líquido e posteriormente determinados por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) (Kamala-Kannan, 2008). No Brasil, vários estudos são realizados com o objetivo de quantificar a concentração de metais em diversos ambientes. As águas da Lagoa da Pampulha, em Belo Horizonte, foram avaliadas em algumas dessas pesquisas. As concentrações de Cd, Cr e Pb foram menores que os valores

máximas recomendadas para água Classe I, de acordo com a classificação da Resolução 357 do CONAMA. No entanto a concentração de Mn foi maior que o limite máximo estabelecido para essa mesma classe (Pereira, 2004). Outro trabalho investigou a influência de fatores antropogênicos na qualidade da água do reservatório da Pampulha. Os resultados enfatizaram a forte eutrofização e degradação do reservatório com contaminação por metais como Cr, Cu, Ni e Zn (Friese, 2010).

A necessidade de esforços nas pesquisas em Química Analítica para o desenvolvimento de metodologias adequadas ao monitoramento de metais em concentrações traço no ambiente, é exemplificada pelas propostas encontradas na literatura. Há trabalhos que utilizam procedimentos de pré-concentração para Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Faraji e colaboradores utilizaram nanopartículas de Fe_3O_4 cobertas com ácido decanóico como adsorvente para extração em fase sólida de Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Zn em amostras de águas naturais, obtendo limites de quantificação iguais a 0,3; 0,7; 0,5; 0,6; 0,8 e 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Faraji, 2010). Outro estudo descreve a retenção de Zn presente em amostras de água em uma coluna com acetato de etil vinila e posterior eluição com HCl para determinação por ICP OES. O fator de concentração obtido foi da ordem de 40 vezes, com valor de desvio padrão relativo em torno de 4% para leituras de seis replicatas (Escudero, 2010). Silva e colaboradores utilizaram pré-concentração com 4-(2-piridilazo)-resorcinol (PAR) em pH 5 em um procedimento de extração por ponto nuvem para determinação de Cu, Zn, Cd e Ni em amostras de água natural por ICP OES (Silva, 2009).

2.2 Sedimentos

Sedimentos são a camada de partículas orgânicas e inorgânicas que se encontram depositadas na parte mais baixa dos corpos d'água como rios, lagos e mares (Baird, 2002). Os sedimentos são originados em processos de intemperismo, da erosão e transporte, e da deposição como um agregado solto de

partículas numa bacia sedimentar (Wincader, 2009). Os sedimentos podem ser considerados como resultantes da integração de todos os processos que ocorrem no ambiente aquático (Esteves, 1988) e atuam como importantes reservatórios de metais (Araújo, 2010). As principais frações dos sedimentos responsáveis pelo acúmulo de metais são as partículas pequenas, silte (0,0039 – 0,0625 mm) e argila (< 0,0039 mm). A grande área superficial e a elevada capacidade de troca catiônica explicam a alta capacidade de retenção dos metais nas partículas dessas frações dos sedimentos. As espécies metálicas que se encontram retidas nos sedimentos podem ser disponibilizadas para o corpo d' água por diversos fatores como: alteração das condições redox e do pH do meio e revolvimento do material de fundo (efeito mecânico). O estudo com sedimentos permite obter informações sobre o estoque mobilizável dos contaminantes, assim como a exposição da água e dos organismos aquáticos (Belo, 2010).

Estas especificidades têm incentivado o uso dos sedimentos em diversas pesquisas de natureza ambiental. Shutar e colaboradores estudaram a presença de metais em sedimentos do Rio Hindon, na Índia. As classificações dos níveis de contaminação utilizadas nesse trabalho foram feitas pelo índice de geoacumulação (I_{geo}), e indicaram que os sedimentos apresentaram-se moderadamente poluídos para Cu, Cr e Fe; despoluídos a moderadamente poluídos para Mn, Pb e Zn e fortemente poluídos para Cd (Shutar, 2009). Vicent-Martorell e colaboradores determinaram a concentração de Cu, Zn, Cd, Pb e As em amostras de água e sedimentos de dois rios de regiões poluídas na província de Huelva na Espanha. Os resultados desta pesquisa indicaram que as concentrações destes cinco analitos excederam aos limites de referência em algumas amostras de água, e para quase todas as amostras de sedimentos. A presença destes metais nos compartimentos estudados foi associada às atividades de indústrias metalúrgicas da região (Vicent-Martorell, 2009). Pesquisadores chineses avaliaram a distribuição espacial de metais tóxicos em uma importante região industrial do norte do país por meio de determinação de Hg, As, Cr, Pb, Cu, Zn e Cd em amostras de água, sedimentos e plantas (Zhang,

2009). Todos estes estudos encontraram correlação entre a concentração dos metais presentes em água e em sedimentos.

No Brasil, estudos recentes avaliaram a contaminação de sedimentos por Cd, Cu, Ni, Pb e Zn em um afluente do Rio São Francisco, impactado pela exploração de zinco. Os resultados encontrados sugerem a necessidade de uma avaliação complementar da origem dos metais, tendo em vista que outros fatores, como o uso de fertilizantes, podem influenciar a presença de metais em água e sedimentos (Saraiva, 2009). A distribuição de Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn nos sedimentos de superfície das praias do Lago de Itaipu foi alvo de estudo. Os resultados indicaram que as concentrações de Cu e Pb são maiores que as concentrações naturais esperadas para estes elementos. A classificação utilizada nessa avaliação foi feita com uso de valores de background mundial. Esta metodologia compara os resultados com a concentração média mundial de metais na crosta terrestre (Belo, 2010). Avaliou-se a concentração de Cd, Cr e Pb presentes em compartimentos da Lagoa da Pampulha. Os analitos foram determinados por Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GF AAS) e os resultados encontrados sugerem que para Cr e Pb as concentrações, segundo a resolução 344 do CONAMA, estão acima do limite em que se prevê um provável efeito adverso para a biota (Pereira, 2004). Um estudo da biodisponibilidade de Al, Ba, Ce, Co, Cr, Fe, K, La, Mn, Na, Rb, Sc e Zn por ativação neutrônica em sedimentos da Lagoa da Pampulha constatou que a presença de elementos em concentração traço em sedimentos não implicaria em riscos para a população que tivesse contato com o material dragado da lagoa. Isto poderia ser explicado porque as concentrações encontradas para estes metais foram semelhantes ou menores que as de outras áreas não impactadas (Sabino, 2004).

2.3 Peixes

O peixe é uma importante fonte de alimentos para as pessoas. No Brasil, o consumo per capita, em 2006, foi de 7 kg, inferior a média anual de 16 kg por

habitante. O consumo no Brasil é menor que o valor recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) de 12 kg por habitante/ano. Uma das espécies mais consumidas no Brasil é a Tilápia (*Oreochromis niloticus*), originária da África. A Tilápia é um animal altamente resistente, facilmente adaptável e de hábitos onívoros. Talvez, em função destas características tenha sido escolhida como uma das principais espécies para povoar regiões artificialmente inundadas. A espécie foi introduzida no Brasil no início da década de 1970 e, atualmente, estima-se que a Tilápia seja o segundo peixe cultivado no mundo em criadouros artificiais (Revista Rural, 2006).

O fato de existir correlação entre a concentração de metais presentes em sedimentos e água e os organismos aquáticos, justifica o desenvolvimento de metodologias para determinação destes elementos em peixes, com o objetivo de se obter informações mais completas sobre áreas contaminadas (Vicente-Martorell, 2009). Além disso, há evidências que o consumo de peixes que apresentam altas concentrações Cd e Pb representa fator de risco para as pessoas (Castro-Gonzáles, 2008).

Alguns trabalhos encontrados na literatura exemplificam a aplicação de espectrometria de absorção atômica para monitoramento de metais em peixes. A determinação de As, Ni, Se e V por FAAS, foi realizada após extração assistida por ultra-som. Essa metodologia apresentou-se mais eficiente que a digestão ácida a quente (Lavilla, 2008). Um trabalho no Lago Vitória, em Uganda, mostrou que a Tilápia pode ser usada em estudos de biomonitoramento, devido às características de acumulação apresentadas para Cu, Zn, Cr e Mn ao longo de semanas de acompanhamento (Birungi, 2007).

2.4. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

ICP OES é uma das técnicas mais empregadas no estudo de constituintes inorgânicos presentes em amostras biológicas, ambientais, de alimentos, de bebidas e outras (Nóbrega, 2006).

O princípio da técnica é a medida da radiação eletromagnética emitida por átomos excitados em um plasma. Os equipamentos de ICP OES normalmente utilizam plasma de gás argônio. O plasma pode ser definido como uma mistura gasosa com alta concentração de íons positivos e negativos. Neste tipo de plasma, os átomos de argônio conseguem absorver energia suficiente para manter a temperatura próxima a 10 000 K (Skoog, 2002). Em aparelhos típicos de ICP OES o plasma é formado em uma tocha, que é uma associação de três tubos concêntricos de quartzo, como mostrada na figura 1.

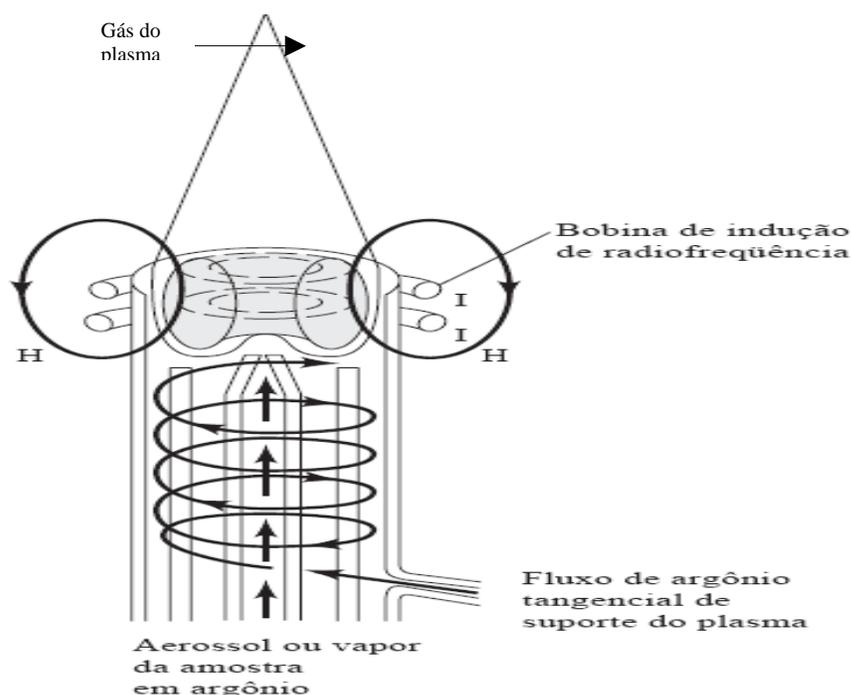


Figura 1. Esquema de montagem da tocha de ICP OES

Fonte: Skoog, 2002, p. 803 (adaptado)

Na seção mais externa, há um fluxo tangencial de gás argônio que tem como finalidade o resfriamento do sistema. Na seção intermediária, há um fluxo de argônio que tem como objetivo manter a estabilidade do plasma e, finalmente, no tubo interno, ocorre a introdução do aerossol da amostra (Giné, 1998).

A figura 2 apresenta as duas configurações possíveis para tocha: a radial, que fornece melhor estabilidade e precisão e a axial, que é utilizada para obter limites de detecção mais baixos (Skoog, 2002).

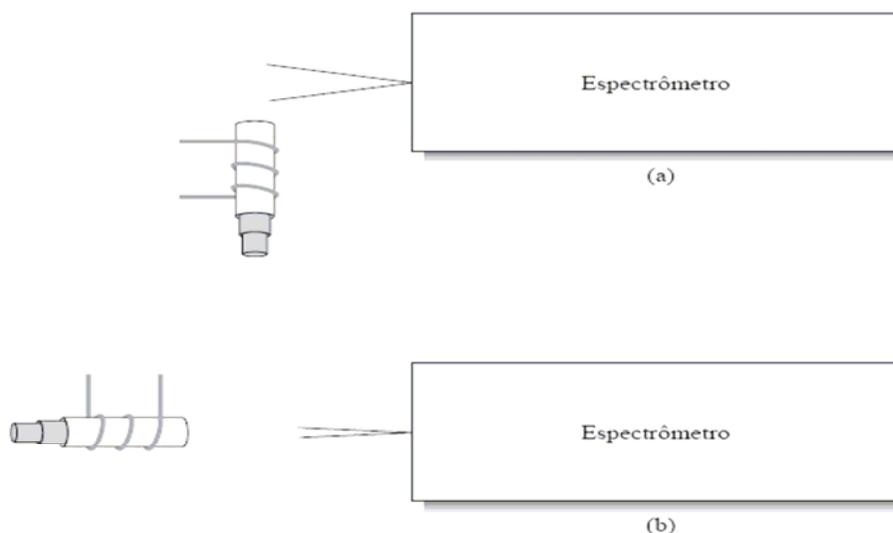


Figura 2. Esquema de montagem da tocha de ICP OES (a) radial (b) axial

Fonte: Skoog, 2002, p. 803 (adaptado)

A configuração axial da tocha permite obter melhor sensibilidade, se comparada à configuração radial, devido ao caminho óptico maior, mas está mais susceptível a interferências de origem molecular e de elementos facilmente ionizáveis (EIE) na região final do plasma onde há maior gradiente de temperatura. Estas interferências podem ser contornadas por diversas estratégias, das quais se destaca a aplicação de “shear-gas flow”, que é um fluxo de gás inerte, geralmente argônio, perpendicular no final do plasma e, o uso de “end-on gás flow”, que, assim como o “shear-gas flow”, é uma estratégia para eliminar a extremidade mais fria do plasma que é a região onde ocorrem fenômenos de auto-absorção que podem provocar diminuição da faixa linear e da sensibilidade (Brenner, 2000).

As amostras são introduzidas no plasma como aerossóis. A amostra líquida é introduzida pelo nebulizador em uma câmara de nebulização, onde se as gotas menores são transportadas para a tocha de quartzo por um fluxo de argônio. As gotas maiores não são aproveitadas para fins de análise e são transportadas para um dreno de descarte. O nebulizador para ICP OES possui princípio de funcionamento semelhante ao da técnica de FAAS.

O esquema geral de funcionamento de um equipamento de ICP OES é apresentado na figura 3.

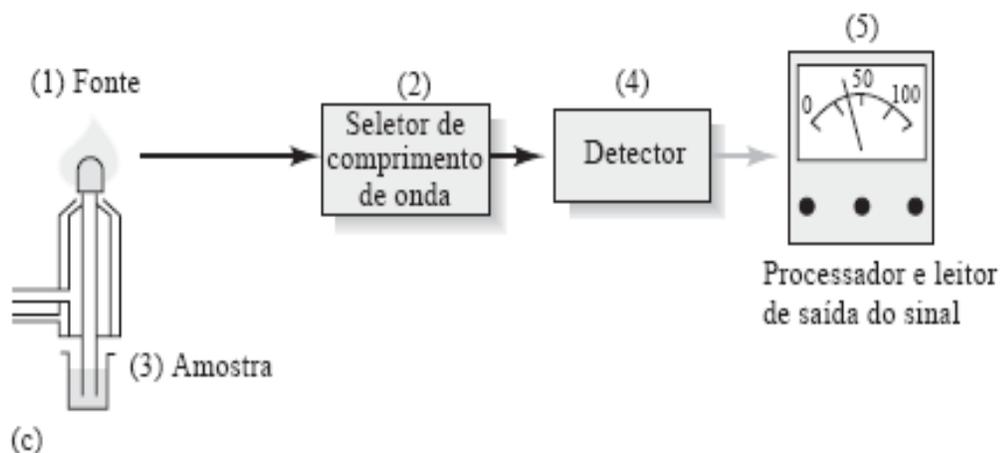


Figura 3. Esquema de funcionamento de um equipamento ICP OES

Fonte: Skoog, 2002, p. 705 (adaptado)

A radiação emitida pelos átomos excitados na fonte de plasma está distribuída por centenas de linhas em diversas regiões do espectro. Estas linhas são associadas às transições eletrônicas características dos elementos presentes no aerossol. O seletor de comprimento de onda separa as linhas de interesse analítico de cada elemento. A radiação separada no seletor é convertida em sinal elétrico no detector. Em seguida, o processador transforma estes sinais elétricos em sinais analíticos que produzem as informações de interesse.

2.4.1 Otimização da condição robusta: Razão Mg II/ Mg I

Um parâmetro para avaliar a eficiência de um aparelho de ICP OES é a otimização da condição robusta, que é medida pela razão Mg II/Mg I. O parâmetro baseia-se na medida da intensidade de emissão de duas linhas do magnésio: Mg II (280,270 nm) / Mg I (285,213 nm) ou Mg iônico /Mg atômico. Uma solução com concentração igual a 2 mg L⁻¹ é empregada nas leituras. O equipamento de ICP OES é otimizado para as condições operacionais que produzam o maior valor da razão Mg II/Mg I. Esta condição otimizada é chamada de condição robusta, que

expressa a capacidade de transferência de energia do plasma para os átomos presentes no mesmo. A robustez está associada, também, ao tempo de residência dos átomos do analito no plasma e à sua resposta às mudanças nas condições de atomização e excitação, bem como às mudanças na composição química da solução em análise. Convencionou-se como ideal para a razão Mg II/ Mg I um valor maior ou igual a oito. Quando se obtém este valor considera-se que, para fins práticos, os processos de atomização, excitação e ionização foram completados (Brenner, 2000).

O uso da razão Mg II/ Mg I na avaliação da robustez pode ser explicada pelo fato das linhas iônicas serem mais sensíveis às alterações nas condições de operação dos equipamentos. Observando-se a expressão matemática de cálculo da razão, espera-se que os valores de intensidade de emissão de Mg I permaneçam constantes para efeitos práticos e as variações nas condições de operação do equipamento afetem apenas os valores das emissões de Mg II.

Um dos objetivos de um estudo de otimização das condições de operação de um ICP OES é o alcance do maior valor numérico possível para a razão Mg II/ Mg I, que pode ser conseguido, principalmente, com fluxo de introdução da amostra entre 0,5 – 0,7 L min⁻¹ e com valores mais altos da potência de radiofrequência do plasma (Brenner, 2000).

2.5 Espectrometria de Absorção Atômica

O princípio da técnica é a medida da absorção de radiação específica por átomos gasosos no estado fundamental. Neste processo, os átomos são levados ao estado excitado. A frequência de radiação absorvida ($h\lambda$) pelo átomo é uma característica intrínseca do elemento químico, o que explica a boa seletividade da técnica. A intensidade da absorção de radiação é proporcional ao número de átomos livres do elemento por unidade de volume (Welz, 1999).

O analito é transformado em átomos gasosos por meio de fontes térmicas de excitação. As fontes mais utilizadas são a chama, (FAAS) e os atomizadores eletrotérmicos na Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização

Eletrotérmica (ET AAS). A técnica de atomização eletrotérmica mais difundida é a GF AAS (Welz, 1999). Na técnica de GF AAS, pequenos volumes, entre 10 e 100 μL da amostra são inseridos no interior de um tubo de grafite pirolítico. Este tubo está em contato com eletrodos de grafite que conduzem corrente elétrica variável provocando o aquecimento controlado do tubo. Este aquecimento tem como funções, a evaporação do solvente usado no preparo da amostra, a pirólise ou calcinação do material constituinte da matriz e a atomização dos átomos do analito (Campos, 1991). Este aquecimento é feito gradualmente, sendo que a temperatura é mantida estável por alguns segundos em diferentes patamares de temperatura. A relação entre tempo e temperatura descreve o programa de aquecimento de forno de um equipamento de GF AAS.

O vapor atômico formado é confinado no interior do tubo produzindo uma alta população de átomos no estado fundamental por unidade de volume. Em FAAS os átomos permanecem na cela de atomização por um tempo menor. Esta característica confere a GF AAS valores de limite de detecção e quantificação menores que os usualmente alcançados em FAAS.

A figura 4 apresenta um esquema de introdução de amostra líquida no interior de um tubo de grafite com plataforma inserida. A plataforma tem como função a distribuição mais homogênea da temperatura no interior do tubo de grafite, evitando fenômenos de condensação que podem diminuir a sensibilidade das medidas (Welz, 1999).

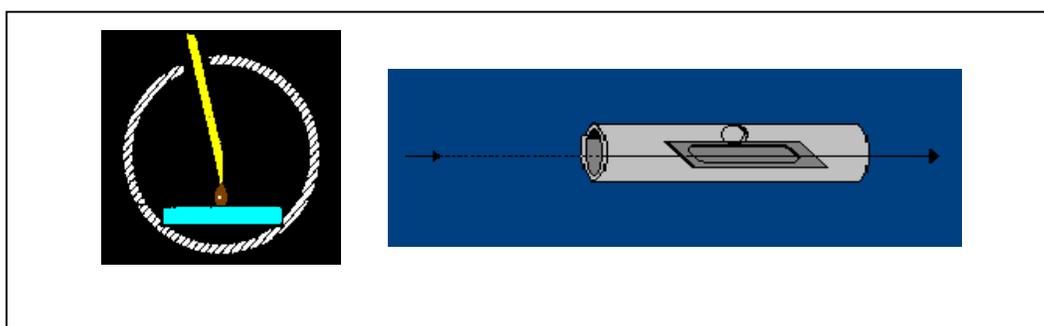


Figura 4 Vista de um tubo com plataforma inserida no momento da deposição de uma solução sobre a plataforma.

2.5.1. Modificação química

Apesar da boa seletividade e da melhor sensibilidade de GF AAS, o uso desta técnica é limitado por problemas de interferência, principalmente de natureza não espectral. Esta interferência, na fase condensada e na fase de vapor, tem como efeito principal, a diminuição do número de átomos do analito, o que compromete a sensibilidade. Dentre as estratégias propostas para contornar os problemas de interferência não espectral há destaque para a utilização da modificação química. A modificação química tem como objetivo principal separar os átomos do analito dos concomitantes da matriz no momento da medida da absorção (Campos, 1991). Os modificadores alcançam este objetivo por dois mecanismos principais, estabilizando termicamente o analito na fase condensada enquanto os componentes da matriz são destruídos em temperaturas mais altas com auxílio da ação catalítica do modificador (Welz, 1999).

No início do uso, a modificação química era conhecida como modificação de matriz (Tsalev, 2000). Os primeiros registros de investigação sistemática sobre modificação de matriz são atribuídos a Ediger e colaboradores em 1975 (Welz, 1999). O uso da modificação química não é restrito à GF AAS, havendo registro de sua utilização em outras técnicas como Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor e Atomização Eletrotérmica (VG-ET AAS), Vaporização Eletrotérmica Acoplada a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ETV-ICP-MS) e Geração de Hidretos com Vaporização Eletrotérmica Acoplada ao ICP-MS (HG-ETV-ICP-MS) (Tsalev, 2000).

A modificação química pode ser utilizada de diversas maneiras. No início, era utilizada quase que exclusivamente com a injeção de uma quantidade de solução modificadora (soluções de uma mistura de sais puros de Pd e Mg, por exemplo), junto da amostra a ser analisada na cela de atomização. A esta mistura específica deu-se o nome de modificador universal (Welz, 1999).

Outra forma de uso dos modificadores químicos é a modificação permanente. Na modificação permanente são adicionados, isoladamente, volumes

sucessivos da solução modificadora no tubo de grafite que é exposto a um programa de temperatura específico para obter-se, desta forma, a parede do tubo ou da plataforma impregnada desta substância. A este processo é dado o nome de tratamento do tubo. Este tratamento permaneceria atuante no interior da cela por diversos ciclos de atomização sem perda de sua efetividade, e seria responsável pelo aumento da vida útil dos tubos de grafite pirolítico. Esta atuação prolongada é associada ao tipo de interação entre a superfície do atomizador e a substância modificada (Volynsky, 1998) ou a massa relativamente alta do modificador comparativamente ao analito. Na modificação permanente utiliza-se normalmente 500 µg da substância utilizada no tratamento do tubo de grafite (Silva, 1999). Apesar de existirem controvérsias quanto à elucidação dos mecanismos de ação dos modificadores permanentes em sua interação com a matriz, com a superfície atomizadora e o próprio analito, há uma concordância quanto ao efeito positivo da utilização destas substâncias em GF AAS (Volynsky, 2000).

A modificação permanente mostra-se hábil na resolução de três contrapontos do uso da modificação química: longo programa do forno, risco de contaminação e menor habilidade na destruição completa de matrizes complexas (Silva, 2004)

Para que uma substância seja utilizada como modificador é necessário que possua algumas características:

- 1 – estabilizar o maior número de elementos possíveis;
- 2 – ter atuação catalítica para máxima destruição da matriz na etapa da pirólise;
- 3 – não ser e não conter elementos analisados rotineiramente pela técnica;
- 4 – não reduzir o tempo de vida útil do tubo de grafite;
- 5 – contribuir o menos possível para absorção e fundo (Welz, 1999).

2.5.2 Preparo de amostras

A maior parte das metodologias para preparo de amostra, que estão disponíveis na literatura, emprega ácidos inorgânicos fortes e trabalha em altas temperaturas. Estes métodos geralmente apresentam alto consumo de reagentes e são constituídos de várias etapas. Como conseqüências há riscos de perdas de analito e contaminação das amostras durante o processo de manuseio. Outras desvantagens são o tempo de execução dos processos de preparo da amostra e a possibilidade de exposição do analista a riscos de natureza ocupacional, além do elevado volume de resíduos gerados no processo (Vandercasteele, 1994).

Estratégias de preparo de amostra como, suspensões e solubilização em meio alcalino são alternativas para minimizar as dificuldades apresentadas pelos processos convencionais de abertura de amostras (Cal- Pietro, 2002; Nóbrega, 2006).

2.5.2.1 Preparo de suspensões para Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

Suspensão de partículas insolúveis permite a liberação dos analitos associados à fase sólida. O meio líquido usado no preparo de suspensões pode conter tensoativos orgânicos como o Triton X-100 ou ácidos e misturas ácidas (Sardans, 2010).

As suspensões têm sido utilizadas em trabalhos de determinação de metais por GF AAS em diferentes matrizes. Em um trabalho de revisão, foram apresentadas diferentes formas de preparo e estabilização de suspensões para GF AAS. Diversas estratégias são apresentadas para manter homogeneidade das suspensões, como, uso de agentes tensoativos, agitação ultra-sônica, agitação mecânica, solventes orgânicos como glicerina, dentre outros (Cal-Pietro, 2002).

Fernandes e colaboradores compararam diversas estratégias de preparo de suspensão na determinação de V em amostras de cabelo por GF AAS. As estratégias investigadas empregaram meio nítrico fracamente concentrado (0,1 % v/v), Triton X-100 (0,1 % v/v) e aminas terciárias solúveis em água (CFA-C, pH 8). Os valores para o desvio padrão relativo foram menores que 8,0% (Fernandes, 2007). Em outro trabalho pesquisadores utilizaram misturas de monoetanolamina e ácido cítrico e de trishidróximetilaminometano e ácido cítrico na solubilização de amostras de leite para determinação de Ca, K, Mg, Na, P, Ba, Cu, Fe, Mn e Zn por ICP OES. O objetivo do trabalho foi propor alternativas ao reagente comercial CFA-C. Os resultados encontrados com material de referência certificado de leite me pó integral mostraram que os objetivos do estudo foram alcançados (Santos, 2002). Um estudo avaliou a presença de contaminantes em rejeitos de eletroeletrônicos por meio de análise de suspensão. As peças de plástico foram trituradas e pesadas diretamente em um tubo de politetrafluoretileno (PTFE), seguida de adição de dimetilformamida (DMF) e o volume completado com água desionizada. Os elementos Cd, Cr, Pb e Sb foram determinados por GF AAS com uso de modificador químico universal. Os valores dos desvios padrão relativo foram menores que 2,5% (Santos, 2010).

2.5.2.2 Solubilização em meio alcalino para Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

A literatura apresenta o preparo de amostras em meio alcalino com diversos reagentes como, aminas terciárias solúveis em água, reagentes alcalinos fortes e o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) (Nóbrega, 2006).

O hidróxido de tetrametilamônio é uma base derivada de um sal quaternário de amônia que tem sido utilizada desde a década de 1970, no preparo de amostras diversas como materiais biológicos, ambientais, alimentos e outros. As vantagens relacionadas ao uso desta base, em relação ao preparo por aquecimento com soluções fortemente ácidas, são: uso de menor volume de

reagentes (normalmente na faixa do μL), menor tempo de preparo da amostra e utilização de temperatura ambiente ou aquecimento brando.

A determinação de Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn em amostras de unha por GF AAS foi realizada após a solubilização em TMAH. Os resultados deste trabalho apontam para a possibilidade de se completar o processo de solubilização em temperatura ambiente (Batista, 2008). Ghisi e colaboradores utilizaram TMAH no preparo de materiais de referência certificados de ostra, músculo bovino e hepatopâncreas de lagosta para determinação de Cd, Cu e Zn por FAAS. Os resultados de exatidão e precisão obtidos para as estratégias avaliadas de introdução de amostra se mostraram satisfatórias (Ghisi, 2007). Um procedimento para determinar Hg orgânico em amostras de peixes é proposto para CV AAS. A amostra é solubilizada em temperatura ambiente com TMAH e o Hg inorgânico é quantificado. Outra alíquota da amostra é processada com ácido em digestão assistida por microondas e o Hg total é determinado. A diferença da concentração de Hg entre as duas metodologias indica a concentração de Hg orgânico presente (Torres, 2009).

2.5.3 Otimização multivariada

2.5.3.1 Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial empregado na otimização de metodologias analíticas tem como objetivo definir qual ou quais os fatores são significativos na obtenção da resposta. Além disso, o planejamento pode indicar possíveis interações entre os fatores estudados e apontar o nível estudado mais significativo de cada fator investigado. Admite-se que estes ensaios seriam suficientes para uma avaliação completa do universo delimitado para o estudo. Este tipo de avaliação é possível por meio de ensaios realizados com a combinação de todos os fatores e níveis estudados (Barros Neto, 2003). Estas informações são

usualmente apresentadas na forma de tabelas e gráficos de Pareto que são produzidos por programas de computacionais.

2.5.3.2 Planejamento Composto Central

As informações obtidas pelo planejamento composto central (CCD) em trabalhos de otimização de metodologias analíticas são de natureza quantitativa. O planejamento composto central informa qual o nível crítico de um fator significativo. As respostas obtidas nos ensaios feitos com o CCD são frutos, assim como no planejamento fatorial, da combinação de fatores e níveis a serem estudados. Esses fatores e níveis estudados em um CCD podem ser aplicados após obtenção dos resultados de um planejamento fatorial. Planejamentos compostos centrais permitem fazer interpretações gráficas da significância dos fatores por meio de superfícies de resposta (Barros Neto, 2003).

Lobo e colaboradores compararam a otimização univariada e multivariada das condições experimentais para determinação de Cu, Ni, Pb, e Cd em amostras de biodiesel por GFAAS. As condições avaliadas foram: temperaturas de pirólise e atomização, tipo de modificador e estratégia empregada no preparo da amostra. Os pesquisadores concluíram que a otimização multivariada é uma boa ferramenta para avaliar as condições de análise em GF AAS (Lobo, 2009). Amorim et al empregaram planejamento fatorial para otimizar as temperaturas de pirólise e de atomização e o tipo de modificador na determinação de Al em amostras de refrigerantes por GF AAS. Os autores concluíram que o uso da estratégia multivariada foi satisfatório para se obter as condições otimizadas o programa de forno (Amorim, 2006).

3. Objetivo geral e justificativa

A determinação simultânea de vários elementos por ICP OES é uma característica da técnica, que aplicada na determinação de metais em amostras de água tratada e de manancial é importante, porque permite que as empresas que tratam e distribuem água para a população realizem o controle de qualidade da água em consonância com as exigências da legislação. O uso de otimização multivariada para estabelecer a condição robusta é uma possibilidade de obter maior eficiência do ICP OES na quantificação, sem interferências, de vinte analitos em duas matrizes diferentes, água tratada e de manancial.

A determinação de metais em amostras de sedimentos e peixes normalmente é feita utilizando processos de solubilização de amostras que, empregam ataque com ácidos inorgânicos fortes em temperaturas elevadas. As metodologias que empregam uso de suspensões de sedimentos e solubilização alcalina para peixe, são alternativas para a determinação de metais por GF AAS nas duas matrizes.

No presente trabalho são propostas metodologias analíticas para determinação de prata (Ag), alumínio (Al), boro (B), bário (Ba), berílio (Be), cálcio (Ca), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), potássio (K), lítio (Li), magnésio (Mg), manganês (Mn), sódio (Na), níquel (Ni), chumbo (Pb), vanádio (V) e zinco (Zn) em amostras de água por ICP OES; metodologias para determinação de Cu, Mn, Ni, Sn e Zn em amostras de sedimentos por GF AAS e desenvolvimento de metodologias para determinação de Cd, Mn, Pb, Ni e Zn peixes por GF AAS.

A escolha dos vinte metais a serem determinados em água se deu pelas exigências da Portaria MS 518 e da Resolução 357 do CONAMA, além de atender á necessidades da COPASA para Ca, Mg e Na. A metodologia desenvolvida será empregada no monitoramento da presença de metais em água tratada e de manancial pela legislação pertinente.

3.1 Objetivos específicos

- Obtenção das condições de operação de um ICP OES utilizando otimização multivariada para determinação de metais em águas.
- Diminuição das interferências na determinação de metais em amostras de sedimentos introduzidas na forma de suspensões no GF AAS, utilizando a estratégia de modificação química permanente.
- Utilização da otimização multivariada para determinação das condições ótimas de análise no GF AAS, após solubilização alcalina de amostras de peixes.
- Determinação dos parâmetros de mérito em todas as metodologias desenvolvidas.
- Investigação do desempenho do reagente alcalino, Universol[®], na solubilização de amostras de peixes para determinação de Cd e Ni por GF AAS.

4. Parte Experimental

4.1 Amostras

4.1.1 Amostras de água

As amostras de água de manancial utilizadas na otimização e validação das metodologias para determinação de metais por ICP OES foram coletadas em outubro de 2008 no lago artificial Serra Azul. O lago é de propriedade da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) e está localizado no município de Mateus Leme, Minas Gerais.

As amostras foram coletadas a cerca de 30 cm abaixo da lâmina d'água utilizando frasco de polietileno previamente descontaminados. Foi adicionado 1 mL de HNO₃ 65% m/m para cada litro de amostra para manter o pH menor que 2. As amostras foram estocadas em temperatura ambiente até o momento da utilização (APHA, 1998).

As amostras de água tratadas foram coletadas diretamente da torneira do laboratório do Setor de Águas Tratadas e Poços, Setor Físico-Químico da Divisão de Pesquisa e Qualidade da Água da COPASA em Belo Horizonte. As amostras foram coletadas após uma descarga ininterrupta de cerca de 30 segundos. O tipo de frasco em que se acondicionaram as amostras de água tratada, bem como o volume e a concentração de HNO₃ usado no processo de acidificação, foi igual ao empregado para as amostras de água bruta.

4.1.2. Sedimentos

As amostras de sedimentos foram coletadas às margens da Lagoa da Pampulha, nos meses de março e abril de 2007. As amostras foram coletadas próximas à lâmina d'água em região que aparentava ter sido coberta recentemente por água. Utilizou-se uma pá de polietileno na coleta e o material foi acondicionado em potes de polietileno com boca larga e de volume de cerca de

300 mL. No momento da coleta foi feita a drenagem, por escoamento, do excesso de água do sedimento. Os frascos foram fechados e levados ao laboratório. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a temperatura de cerca - 5 °C até o momento do preparo.

4.1.3. Peixes

As amostras de peixe (tilápia) foram adquiridas nos meses de março e abril de 2008 em mercados regulares do município de Contagem, Minas Gerais. As amostras foram acondicionadas em caixa de polipropileno com gelo em seu interior e levadas ao laboratório imediatamente. O peixe foi mantido sob refrigeração por cerca de - 5 °C até o momento dos trabalhos de desenvolvimento de metodologias analíticas para cada metal estudado.

4.2 Preparo das amostras

4.2.1 Amostras de água

As amostras de água foram filtradas em membrana de filtro de 45 µm antes de serem utilizadas.

4.2.2 Amostras de sedimentos

As amostras de sedimentos foram secas a 60 °C por 24 horas. Os materiais como galhos, pedras, folhas e diversos, foram separadas previamente com auxílio de uma espátula de plástico. As amostras foram homogeneizadas com a espátula usada na separação das sujidades, trituradas em gral e pistilo e passadas em peneira com abertura de 65 µm.

Preparou-se a suspensão pela pesagem de massas variáveis (10 – 100 mg) do sedimento diretamente no copo do amostrador automático do espectrômetro de absorção atômica. A massa utilizada foi em função da presença dos diferentes

analitos na matriz e, conseqüentemente, do sinal analítico produzido por cada constituinte. O preparo de suspensões de sedimentos para o manganês, por exemplo, necessitou de uma massa menor de sedimento, tendo em vista que a concentração alta deste metal na amostra poderia produzir sinal analítico de intensidade acima do limite de 0,7 s (Lei de Beer).

Adicionaram-se 1,00 mL da solução aquosa de diluente (3 %v/v de H_2O_2 e 5 %v/v de HNO_3) ao sedimento. É atribuído ao H_2O_2 a função de oxidar a matéria orgânica presente na matriz e ao HNO_3 a disponibilização do metal adsorvido ou associado quimicamente à superfície das partículas de sedimento, embora este ácido também possua características oxidantes (Cal-Pietro, 2002).

A suspensão formada foi mantida homogênea por meio de fluxo de ar criado por uma bomba de aquário. As figuras 5 e 6 apresentam o sistema usado para manter as suspensões homogêneas no momento da análise.



Figura 5. Vista da bomba de aquário com mangueira conectada diretamente no copo do amostrador automático

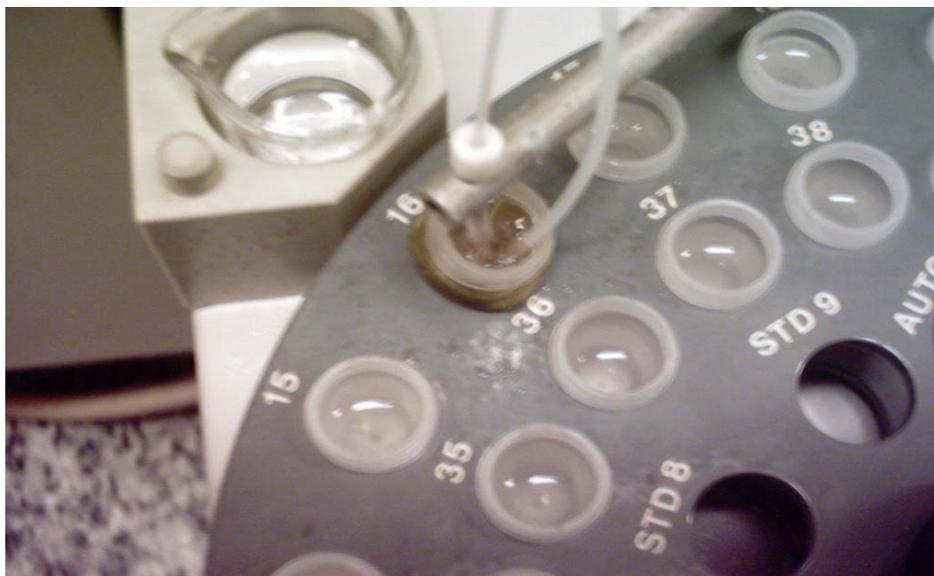


Figura 6. Suspensão de sedimento mantido homogêneo durante a coleta da amostra pelo braço do amostrador automático

O preparo das suspensões dos materiais de referência certificados, NIST 1944 e 2709 e NRCC PACS-2 e MESS-3, foram feitas da mesma forma que as amostras de sedimentos da Lagoa da Pampulha.

4.2.3 Amostras de peixes

Foi feito um corte com faca na região abdominal do peixe para retirada das vísceras. A pele foi retirada com um corte rente à região entre a pele e o músculo. O músculo foi separado da estrutura óssea e da cartilagem e lavado com água desionizada. Aproveitou-se apenas o músculo do animal, que foi homogeneizado, guardado em frasco de polietileno previamente descontaminado e em seguida estocado sob refrigeração a cerca de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. No momento da análise, uma porção deste peixe foi descongelada a temperatura ambiente. Pesou-se massa de aproximadamente $0,2000\text{ g}$ diretamente em um frasco de centrifugação de $15,0\text{ mL}$. Adicionou-se $500\text{ }\mu\text{L}$ de TMAH 25 \%m/v . Deixou-se esta mistura em banho-maria, a cerca de $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, entre 30 e 40 minutos até a completa solubilização. Após

este tempo, completou-se o volume para 10,0 mL com solução de HNO₃ 1% v/v para manter o pH em torno de 8.

O procedimento utilizado para solubilização das amostras de peixes com a mistura de reagentes Universol[®] foi semelhante ao processo com TMAH. A massa de peixe, o volume de reagente, o volume final da solução e o tempo de solubilização foram iguais para os dois reagentes. No entanto, as condições de temperatura do banho-maria para o processo de solubilização com Universol[®] foram mais brandas, em torno de 60 °C.

Utilizou-se material de referência certificado TORT 2 para avaliação da exatidão. A amostra foi preparada de maneira similar às amostras de peixe, no entanto, o tempo de solubilização em banho-maria foi de 2 horas.

4.3 Instrumentação e softwares

4.3.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

A determinação dos elementos inorgânicos em amostras de água foi feita em um equipamento de ICP OES da VARIAN, simultâneo, modelo Vista 710-ES (Mulgrave, Austrália). O aparelho possui configuração de tocha axial, é equipado com fonte de radio frequência de 40 MHz e fornece potências entre 800 e 1500 W. A parte óptica do aparelho comporta um dispositivo de carga acoplada como detector e uma grade Echelle (79 linhas nm⁻¹), que cobre a faixa de 167-785 nm. O equipamento conta com uma câmara de nebulização Sturman Master e nebulizador V-Groove. Também possui um sistema de “end-on gas” (cone frio), além de um amostrador automático SPS 3 acoplado. As leituras no equipamento de ICP OES foram feitas em contagens de emissão por segundo (cps). As condições de operação do equipamento foram otimizadas e são apresentadas na secção 5.1.1. As leituras nesse equipamento foram executadas no Setor de Águas Tratadas e Poços da COPASA. As condições operacionais do equipamento são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Condições operacionais do ICP OES na determinação de metais em amostras de água tratada e de manancial

Potência do Plasma (kW)*	1,20 - 1,40
Pressão do gás de nebulização (kPa)*	210 - 230
Velocidade da bomba que introduz a amostra (rpm)*	8 - 12
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Diâmetro do tubo injetor (mm)	2,0
Interface	end-on gas (cone frio)

* Parâmetros otimizados conforme descrito nas secção 4.6

4.3.1.1 Linhas analíticas selecionadas

O valor da energia de ionização para cada linha analítica selecionada para os elementos Ag, Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, V e Zn determinados por ICP OES são apresentados na tabela 2.

A escolha destas linhas analíticas levou em conta dois aspectos: a sensibilidade e a potencialidade de interferência espectral de outros elementos possivelmente presentes em água.

4.3.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

A determinação dos constituintes inorgânicos (Cu, Mn, Ni, Sn e Zn) em sedimentos foi feita em um instrumento de GF AAS GBC Scientific Equipment Pty Ltd, modelo 906 AA (Victoria, Austrália) equipado com um forno de grafite (GF 3000), amostrador automático (PAL 3000) e com corretor de fundo por lâmpada de deutério.

As leituras nesse equipamento foram executadas no Setor de Águas Tratadas e Poços da COPASA. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco, fornecidas pela Photron, para todos os elementos. Os tubos de grafite pirolítico sem plataforma foram fornecidos pela VARIAN.

Tabela 2. Linhas analíticas utilizadas na determinação de metais em água e as energias de ionização das linhas atômicas (I) e iônicas (II)

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Energia de ionização (eV)*	Elemento	Comprimento de onda (nm)	Energia de ionização (eV)*
Ag I	328,068	3,78	Fe II	238,204	5,2
Al I	396,152	3,14	K I	766,491	1,61
B I	249,772	4,96	Li	670,783	-
Ba II	455,403	2,51	Mg II	279,553	12,1
Be I	234,861	5,28	Mn II	257,610	4,77
Ca I	317,933	7,04	Na I	588,995	-
Cd II	226,502	5,47	Ni	231,604	-
Co II	238,892	5,6	Pb II	220,353	7,37
Cr	357,868	-	V II	309,310	4,33
Cu I	327,395	3,78	Zn II	213,857	5,8

*(Brenner, 2000)

A determinação de Cd, Mn, Pb, Ni e Zn em peixes foi feita em um aparelho GF AAS da Perkin Elmer (Norwalk, CT, USA) Analyst 400 equipado com um forno de grafite HGA 900, amostrador automático AS 800 e um corretor de fundo por lâmpada de deutério. As leituras nesse equipamento foram executadas no laboratório 159 do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As lâmpadas de cátodo oco de Mn, Pb, Ni e Zn foram fornecidas pela Perkin Elmer, assim como a lâmpada de descarga sem eletrodo de cádmio. Os tubos de grafite pirolítico com plataforma foram fornecidos pela Perkin Elmer.

O sistema de aquecimento dos tubos, nos dois equipamentos, foi feito de forma longitudinal.

Todas as medidas feitas nos equipamentos GF AAS localizados na COPASA e na UFMG foram feitas por integração da área do sinal de absorção.

4.3.3 Demais equipamentos e aparatos de laboratório

Todas as medidas de massa foram feitas em uma balança analítica modelo Shimadzu AX-200 com resolução de 0,0001g e peso máximo de 200g localizada no laboratório 159 do Departamento de Química da UFMG.

No preparo das amostras de sedimentos foi utilizada uma estufa de secagem TE-354/1 da Tecnal (Piracicaba, Brasil), com temperatura controlada manualmente e faixa de trabalho entre 50 e 250 °C e peneiras de malha fina, Granutest, com abertura de 65 µm. A determinação de metais em sedimentos por GF AAS foi feita por amostragem por suspensão cujo preparo é descrito na secção 4.2.2. As suspensões foram mantidas homogêneas com o fluxo de ar criado por uma bomba de aquário comercial Superpamp A320 (Big Air).

As amostras de peixe foram solubilizadas com auxílio de um banho-maria, que foi preparado com um aquecedor e agitador magnético modelo TE-085 da Tecnal.

4.3.4 Software

O pacote estatístico do software Statistica 6.0 da Statsoft (Statsoft, 1999) foi usado para a realização e avaliação dos experimentos que utilizaram otimização quimiométrica por planejamento fatorial e composto central.

4.4 Reagentes e soluções

A água utilizada em todos os experimentos foi previamente destilada e desionizada em uma coluna de troca iônica convencional (condutividade máxima de 0,5 µS cm⁻¹) e posteriormente tratada em um sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, EUA) obtendo-se água com resistividade maior que 18,2 MΩcm⁻¹.

As vidrarias, copos do amostrador automático dos equipamentos de GF AAS, ponteiras de pipeta automática e materiais comuns de laboratório foram descontaminados por imersão em banho de ácido nítrico 10 % v/v por no mínimo

24 horas e depois enxaguados entre seis e sete vezes com água deionizada. Estes materiais foram secos em temperatura ambiente em um recipiente plástico (tipo “tapwar”) fechado.

Para os estudos em ICP OES foi preparada uma solução intermediária multielementar com concentração variada dos elementos Ag, Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, V e Zn. Soluções estoque monoelementares de cada elemento (Titrisol, Merck) com concentração igual a 1000 mg L^{-1} e grau de pureza analítica igual a 99,99 % foram utilizadas neste preparo. A concentração dos metais nesta solução intermediária é apresentada na tabela 3.

Tabela 3. Concentração de elementos na solução intermediária usada para preparar as soluções da curva de calibração para determinar metais em água por ICP OES

Elemento	(mg L^{-1})	Elemento	(mg L^{-1})
Ag	0,5000	Fe	2,000
Al	20,00	K	100,0
B	20,00	Li	100,0
Ba	20,00	Mg	100,0
Be	2,000	Mn	10,0
Ca	100,0	Na	100,0
Cd	0,2000	Ni	2,000
Co	2,000	Pb	1,000
Cr	2,000	V	1,000
Cu	0,5000	Zn	10,00

A solução intermediária foi preparada em HNO_3 2 % v/v e foi posteriormente utilizada no preparo das curvas de calibração aquosa, estudos de ajuste de matriz e estudos de recuperação.

Os modificadores permanentes utilizados nos estudos em GF AAS foram as soluções de diversos elementos:

- Solução padrão de irídio - Aldrich, 0,996 g L⁻¹ em ácido clorídrico 10 % v/v;
- solução padrão de rutênio – Fluka, 1,000 g L⁻¹ em ácido clorídrico 1 mol L⁻¹;
- solução padrão de ródio – Aldrich, 1,011 g L⁻¹ em ácido clorídrico 4,9 %;
- solução padrão de tungstênio – Aldrich 1,000 g L⁻¹ em água;
- solução padrão de zircônio - Fluka, 1,000 g L⁻¹ em ácido clorídrico 2 mol L⁻¹.

O peróxido de hidrogênio 30 % m/m e o ácido nítrico 65 % m/m utilizados no preparo do diluente para as suspensões de sedimentos foram fornecidos pela Vetec (São Paulo, Brasil).

Hidróxido de tetrametilamônio a 25 % m/v em metanol (Fluka) 2,2 mol L⁻¹ foi utilizado nos estudos de solubilização alcalina das amostras de peixes para determinação de Mn, Pb e Zn.

A mistura de reagentes denominada Universol[®], reagente e procedimento com solicitação de patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual, com número de pedido igual a 01400003467, foi utilizada na solubilização das amostras de peixes para determinação de Cd e Ni. O Universol é uma mistura que possui em sua composição um reagente alcalino de caráter mais básico que o TMAH.

O gás argônio utilizado em todos os experimentos no ICP OES e no GF AAS foi de pureza 99,999 %.

4.5 Material de Referência Certificado

Os materiais de referência certificados utilizados no estudo foram:

- 1469e, Element Trace in Water, do NIST (National Institute of Standard and Technology), amostra certificada de água de rio com presença de metais em concentração traço.

- 1944 New York/New Jersey Waterway Sediment, do NIST, amostra certificada de sedimento.
- 2709 San Joaquin Soil, do NIST, amostra certificada de sedimento.
- PACS-2 Marine Sediment, do NRCC (National Research Council of Canada), amostra certificada de sedimento marinho.
- MESS-3 Marine Sediment, do NRCC, amostra certificada de sedimento marinho.
- TORT-2 Lobster Hepatopancreas, do NRCC, amostra certificada de fígado e pâncreas de lagosta.

4.6 Otimização multivariada de metodologia para determinação de metais em água por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

As otimização das condições de operação do ICP OES (rotação da bomba que faz a introdução da amostra (rpm), pressão do gás de nebulização (kpa) e potência do plasma (Kw)) foram feitas com um planejamento fatorial. Os experimentos realizados tiveram como resposta analítica as leituras da razão Mg II/Mg I de uma solução de Mg 2,0 mg L⁻¹. A tabela 4 apresenta o planejamento fatorial 2³ montado para a otimização das condições de análise. Os valores máximos e mínimos dos níveis para cada variável foram escolhidos a partir das condições de operação recomendadas pelo fabricante do equipamento.

Usualmente os equipamentos de ICP OES e a literatura sobre a técnica não apresentam a pressão do gás de nebulização, e sim o fluxo do gás de nebulização em L min⁻¹. A conversão para os valores da tabela 4 seria de pressão de 210 e 230 kPa igual 0,4 e 0,6 L min⁻¹, respectivamente. Para a rotação da bomba que faz a introdução da amostra no plasma, os valores de 8 e 12 rpm correspondem ao fluxo de introdução das amostras são iguais a 0,6 e 1,0 mL min⁻¹.

Tabela 4. Matriz do planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da condição robusta de operação do ICP OES na determinação de metais em água

Variáveis	Níveis	
	(-1)	(+1)
Potência (kW)	1,20	1,40
Pressão (kPa)	210	230
Rotação (rpm)	8	12

4.7 Otimização de metodologia para determinação de metais em amostras de sedimentos por Espectrometria de Absorção Atômica

4.7.1 Tratamento do forno de grafite

Os tubos de grafite foram tratados com a introdução em seu interior de volume igual a 50 μL da solução do modificador permanente. O tubo foi submetido ao programa de temperatura de forno apresentado na tabela 5. O procedimento foi repetido 9 vezes de forma a obter uma superfície tratada com cerca de 500 μg da substância modificadora. Este programa foi aplicado na obtenção de superfícies com irídio, ródio, rutênio, tungstênio e zircônio. O programa utilizado é semelhante ao aplicado em outros trabalhos com GF AAS (Silva, 1999).

Tabela 5. Programa de temperatura do forno de grafite para tratamento com modificador permanente

Etapa	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Tempo de duração (s)	Fluxo de ar (mL min^{-1})
Pré-secagem	90	5	15	250
Secagem	140	5	15	250
Pirólise	1000	10	10	250
Atomização	2000	0	5	0
Resfriamento	20	1	10	250

4.7.2 Otimização das condições iniciais de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica

Fez-se a otimização de três condições iniciais: (a) volume de amostra líquida introduzida no tubo de grafite; (b) tempo de duração da etapa de secagem e (c) “time constant”. O “time constant” é uma condição relacionada ao número de leituras realizadas pelo aparelho por unidade de tempo. Quanto maior o valor do “time constant”, mais atenuado, ou amortizado é o formato do sinal analítico obtido. Este recurso está disponível no espectrômetro da GBC. Na seção 5 são apresentadas figuras com pulsos de absorção para o mesmo metal, à mesma concentração, obtidos com valores diferentes de “time constant”.

A otimização desses parâmetros foi realizada nas condições de operação (programa de forno) sugeridas pelo fabricante do equipamento.

(a) Avaliou-se qual o volume de líquido a ser introduzido no interior do tubo: 20 ou 40 μL . Observou-se a ocorrência ou não de projeção do líquido para o exterior do tubo.

Volumes de líquido menores que 20 μL introduzidos no interior do tubo de grafite poderiam gerar sinais analíticos de intensidade insuficiente para os estudos, considerando a absorvância integrada (área do pico), dessa forma a avaliação se limitou a dois níveis de volume.

(b) A duração da etapa de secagem começou a ser otimizada de um tempo igual a 3 s. Em seguida o tempo foi aumentado gradualmente de 2 s até um valor em que não ocorresse ebulição com perda, do líquido confinado no interior do tubo.

(c) Para o “time constant” foram realizadas leituras de 0,1 a 0,9 s, em intervalos de 0,1 s, para avaliar em qual tempo o pico analítico se apresentaria mais atenuado e sem alargamento de base.

4.7.3 Otimização univariada para determinação de metais em sedimentos: Otimização do programa de forno

A otimização do programa de forno para determinação de Cu, Mn, Ni, Sn e Zn em sedimentos por GF AAS, bem como a escolha do modificador permanente, foi feita por meio de curvas de pirólise e atomização. Nessa metodologia investiga-se, em momentos distintos, qual a melhor temperatura de pirólise e de atomização. A temperatura de atomização é fixada no valor recomendado pelo fabricante do equipamento ou outro valor de referência para a temperatura é escolhida. Em seguida, o valor da temperatura de pirólise é estabelecido em um patamar mínimo, normalmente a 300 °C. Uma solução contendo a amostra com o elemento de interesse é empregada. As leituras do sinal analítico do elemento são feitas nestas condições, e em seguida a temperatura de pirólise é aumentada em 100 °C. Medidas são feitas nestas novas condições e o processo se repete, sempre aumentando a temperatura de pirólise e mantendo a temperatura de atomização fixa até que a diferença entre as duas temperaturas fique em torno de 500 °C, ou haja deformação do sinal analítico (pico de absorção) em relação ao que se observa rotineiramente em GF AAS, ou então ocorra desaparecimento do sinal analítico. Os resultados das leituras em absorvância integrada para cada condição de análise são plotados em um gráfico em função das temperaturas de pirólise. Observa-se no gráfico, qual foi a temperatura de pirólise máxima antes da ocorrência de um decréscimo brusco do sinal analítico. Esta temperatura é considerada a ideal para pirólise da matriz sem perda de analito. A temperatura de pirólise estabelecida nessa etapa é utilizada para o estudo da melhor temperatura de atomização.

A otimização da temperatura de atomização é feita por metodologia semelhante à otimização da temperatura de pirólise. A temperatura de pirólise é fixada no valor otimizado, as medidas são feitas em diferentes temperaturas de atomização (com decréscimos também de 100 °C) até que o comportamento do sinal analítico seja semelhante ao ocorrido na otimização da temperatura de pirólise (Welz, 1999). A figura 7 apresenta exemplo de um gráfico com curva de pirólise e atomização. Na figura é apresentado o comportamento do Ni em presença do Ir como modificador permanente na determinação em sedimentos por GF AAS.

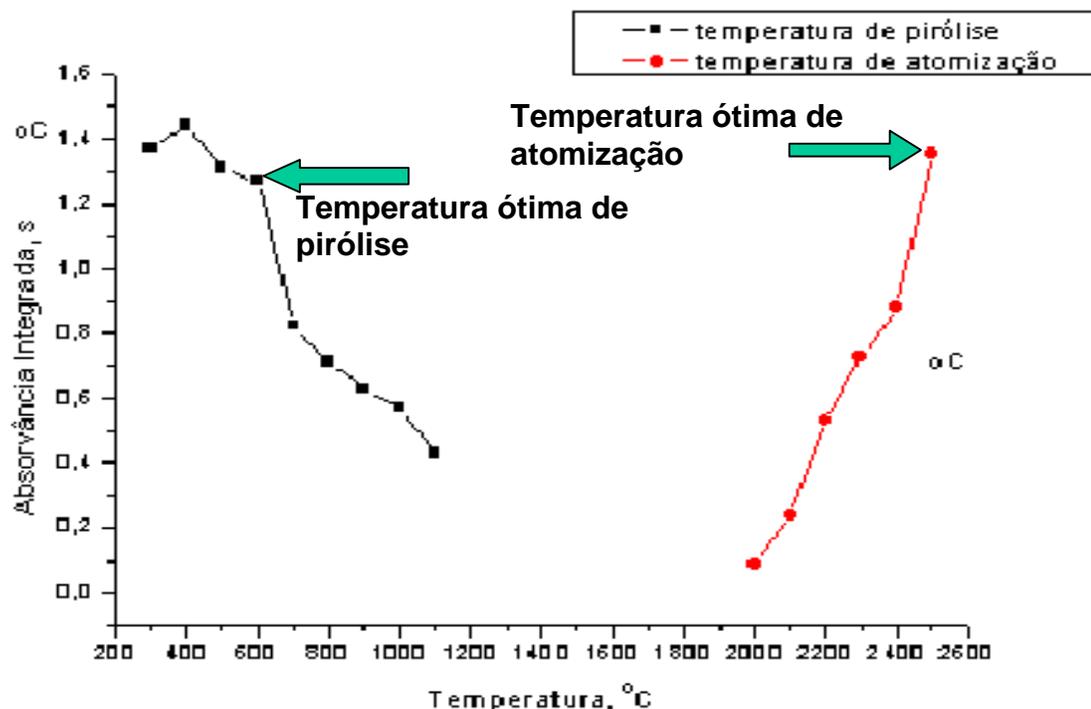


Figura 7. Curva de atomização e pirólise para determinação de Ni em sedimentos usando Rh como modificador.

4.8 Otimização de metodologia para determinação de metais em amostras de peixes por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

As amostras de peixe solubilizadas com TMAH foram utilizadas na otimização das metodologias para determinação de Pb, Mn e Zn e as amostras preparadas com o reagente Universal[®] foram empregadas na otimização das metodologias para determinação de Cd e Ni.

4.8.1 Tratamento de tubo de grafite

O procedimento utilizado foi o mesmo descrito na secção 4.7.1.

4.8.2 Otimização das condições iniciais de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica

Fez-se a otimização de quatro condições preliminares: (a) temperatura da etapa de pré-secagem, (b) tempo de rampa da etapa de pré-secagem, (c) tempo de duração da etapa de secagem e (d) volume de amostra líquida introduzida no tubo de grafite. A otimização preliminar desses parâmetros foi realizada nas condições de operação (programa de forno) sugeridas pelo fabricante do equipamento. A temperatura da etapa de pré-secagem foi reduzida por 5 °C de 90 °C até atingir uma temperatura onde não houvesse ebulição inadequada da amostra no interior do tubo. O tempo de duração da rampa da etapa de pré-secagem foi aumentado em intervalos de 5 s, até que não ocorresse ebulição do líquido no interior do tubo de grafite antes do patamar da etapa de pré-secagem. O volume do líquido introduzido no interior do tubo e o tempo de duração da etapa de pré-secagem foram otimizados conforme descrito em 4.7.2(a) e (b) respectivamente. A otimização das condições iniciais foi necessária tanto para as amostras que foram solubilizadas em TMAH quanto àquelas que foram solubilizadas em Universol[®].

4.8.3 Triagem dos modificadores usados na otimização multivariada

A triagem foi realizada com as condições adaptadas e descrita na secção 4.8.2.

Para os elementos Cd, Pb e Ni fez-se necessária a contaminação da amostra solubilizada, porque a concentração do analito presente não foi suficiente para produzir sinal analítico em absorvância integrada mensurável com boa repetibilidade. A concentração esperada para cada analito na amostra solubilizada, após a contaminação artificial, foi de 5, 20 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd, Pb e Ni respectivamente.

As seis estratégias de modificação avaliadas na etapa de triagem foram: irídio, ródio, rutênio, tungstênio, zircônio (500 μg , em cada caso) e o não uso de

modificador. A escolha dos dois modificadores empregados na construção do planejamento fatorial foi feita por interpretação dos resultados das medidas realizadas com o programa de forno adaptado na etapa de otimização preliminar. A interpretação levou em conta: os maiores valores de intensidade de absorção e, concomitantemente, a geração de sinal analítico típico para GF AAS com eliminação de sinal de fundo eficiente.

Os dois melhores modificadores para cada metal foram empregados, junto das condições de preparo da amostra, na otimização das condições de operação do forno de grafite.

4.8.4 Otimização multivariada

A otimização multivariada foi empregada no desenvolvimento de metodologias para determinação de Cd, Mn, Ni, Pb e Zn por GF AAS em peixes utilizando dois planejamentos distintos. Em um primeiro momento, empregou-se o planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} para Cd, Pb e Zn e 2^3 para Mn e Ni. O planejamento fatorial indicou as variáveis significativas e as tendências, bem como as interações na determinação dos analitos. As variáveis avaliadas no planejamento 2^{4-1} foram: as temperaturas de pirólise e de atomização, o tempo de duração da etapa de pirólise e o modificador permanente. Com o planejamento fatorial 2^3 foram avaliadas as mesmas variáveis que no planejamento 2^{4-1} , com exceção do tempo duração da etapa de pirólise. O tempo de pirólise não foi otimizado de forma multivariada para Mn e Ni, porque os resultados da otimização por planejamento fatorial deste fator para o Cd, Pb e Zn não foram satisfatórios. As temperaturas de pirólise e de atomização e o tempo de duração da etapa de pirólise utilizados na montagem do planejamento fatorial foram máximos e mínimos estabelecidos a partir das condições recomendadas pelo fabricante do equipamento. Os dois modificadores foram escolhidos conforme descrito na secção 4.8.3.

As tabelas 6 e 7 apresentam as variáveis e os níveis estudados na otimização de cada elemento.

Depois de estabelecidos as variáveis significativas e a ocorrência ou não de interação entre elas, utilizou-se outra ferramenta de análise multivariada: o planejamento composto central (CCD) para calcular os valores críticos das variáveis. O CCD foi montado com as tendências, máximas ou mínimas, apontadas pelo planejamento fatorial. As variáveis indicadas como não significativas pelo planejamento fatorial, tiveram seu valor fixado na tendência máxima ou mínima indicada pelo planejamento fatorial. As variáveis indicadas como significativas pelo planejamento fatorial foram otimizadas pelo CCD. O modificador empregado nos estudos do CCD para cada metal em cada matriz foi escolhido pelo planejamento fatorial.

Tabela 6. Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2^{4-1} na determinação de Cd, Pb e Zn em peixes por GF AAS

Variáveis	Níveis					
	Cd		Pb		Zn	
	(-1)	(+1)	(-1)	(+1)	(-1)	(+1)
Temperatura de pirólise (°C)	1500	2000	400	700	400	700
Temperatura de atomização (°C)	300	600	2000	2500	1800	2300
Tempo de pirólise (s)	6	20	6	20	6	20
Modificador (Tipo)	Rh	W	Ir	Zr	Zr	Ru

Tabela 7. Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 2^3 na determinação de Mn e Ni em peixes em peixes por GF AAS

Variáveis	Níveis			
	Mn		Ni	
	(-1)	(+1)	(-1)	(+1)
Temperatura de pirólise (°C)	1400	1700	1100	1700
Temperatura de atomização (°C)	2200	2600	2200	2600
Modificador (Tipo)	W	Rh	W	Rh

As respostas foram medidas em duplicata com exceção do ponto central no CCD que foram feitas em cinco replicatas.

As matrizes que representam os modelos estudados nos CCD's são apresentadas nas tabelas 8 a 10.

Tabela 8. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Cd em peixes por GF AAS

Variáveis	Níveis				
	(-1,44)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,44)
Temperatura de atomização (°C)	1416	1450	1500	1550	1584
Temperatura de pirólise (°C)	298	400	550	700	802
Tempo (s)	12	15	20	25	28

Por limitações de operação do software do equipamento de GF AAS não foi possível operar temperaturas iguais a 1416, 1584, 294 e 802 °C, sendo utilizadas as temperaturas de 1420, 1580, 290 e 800 °C, respectivamente.

Tabela 9. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Mn em peixes por GF AAS

Variáveis	Níveis				
	(-1,44)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,44)
Temperatura de atomização (°C)	2500	2530	2600	2670	2700
Temperatura de pirólise (°C)	1360	1400	1500	1600	1640

Tabela 10. Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Pb em peixes por GF AAS

Variáveis	Níveis				
	(-1,44)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,44)
Temperatura de atomização (°C)	1664	1800	2000	2200	2336
Temperatura de pirólise (°C)	316	350	400	450	484
Tempo (s)	12	15	20	25	28

Por limitações de operação do software do equipamento de GF AAS não foi possível operar temperaturas iguais a 1664, 2336, 316 e 484 °C, sendo utilizadas as temperaturas reais de 1660, 2340, 320 e 480 °C, respectivamente.

A otimização do programa de forno para Ni e Zn não foi feita por CCD, e sim por curvas de pirólise e atomização.

4.9 Parâmetros analíticos de mérito

Para avaliação dos parâmetros analíticos de mérito foram construídas curvas de calibração. As curvas de calibração apresentam faixa de trabalho que contemplam o valor máximo permitido pela legislação brasileira para cada metal nas respectivas matrizes.

As faixas de calibração empregada para cada analito, para estabelecer os parâmetros de mérito na determinação dos metais por ICP OES e GF AAS, são apresentadas nas tabelas 11 e 12 respectivamente.

Tabela 11. Faixa de calibração para determinação dos constituintes inorgânicos em água por ICP OES

Elemento	($\mu\text{g L}^{-1}$)	Elemento	($\mu\text{g L}^{-1}$)	Elemento	($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ag	10,0 – 50,0	Co	20,0 - 100	Mn	100 - 500
Al	200 - 1000	Cr	20,0 - 100	Na	1000 - 5000
B	200 - 1000	Cu	5,00 – 25,0	Ni	20,0 - 100
Ba	200 - 1000	Fe	20,0 - 100	Pb	10,0 – 50,0
Be	20,0 - 100	K	1000 - 5000	V	100 - 500
Ca	1000 - 5000	Li	1000 - 5000	Zn	100 - 500
Cd	2,00 – 10,0	Mg	1000 - 5000		

Tabela 12. Faixa de calibração para determinação dos constituintes inorgânicos por GF AAS

Sedimentos		Peixes	
Elemento	($\mu\text{g L}^{-1}$)	Elemento	($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	2,00 – 10,0	Cd	1,00 – 5,00
Mn	10,0 – 50,0	Mn	10,0 – 50,0
Ni	20,0 - 100	Ni	5,00 – 25,0
Sn	40,0 - 200	Pb	10,0 – 50,0
Zn	2,00 – 10,0	Zn	10,0 – 50,0

Para avaliar a metodologia desenvolvida para a determinação de metais em água por ICP OES, foram preparadas três curvas de calibração para cada analito em água Milli Q, três curvas de calibração em água de manancial e três curvas de calibração em água tratada.

Para avaliar a metodologia desenvolvida para a determinação de metais em sedimentos por GF AAS, foram preparadas três curvas de calibração para cada analito em água Milli Q e três curvas de calibração no diluente (mistura HNO_3 5% v/v e H_2O_2 3% v/v).

Para avaliar a metodologia desenvolvida para a determinação de metais em peixes por GF AAS, foram preparadas três curvas de calibração para cada analito em água Milli Q e três curvas de calibração no peixe solubilizado no reagente alcalino (TMAH para Mn, Pb e Zn e Universol[®] para Cd e Ni).

4.9.1 Linearidade

A linearidade ou faixa linear de um método é definida como sendo o intervalo da curva de calibração em que o sinal da variável dependente (resposta analítica) é diretamente proporcional à variável independente (concentração conhecida do analito) (Ribeiro, 2008). Considerou-se neste estudo a faixa linear entre o limite de quantificação e o ponto da curva de calibração com a maior concentração do analito. A verificação da linearidade para os métodos

desenvolvidos foi feita pelo valor do coeficiente de correlação (r). As metodologias cujas curvas apresentaram valores de r maiores que 0,99 foram consideradas lineares (INMETRO, 2003).

4.9.2 Seletividade

A seletividade é definida como sendo a habilidade do método analítico em distinguir as respostas analíticas dos diferentes constituintes presentes em uma amostra (INMETRO, 2003). A seletividade foi avaliada pela comparação das inclinações da curva de calibração aquosa (curva em água Milli Q) e da curva de calibração na matriz (método de adição de padrão). No presente trabalho, fez-se a comparação por meio de Teste t (Student) para avaliar se houve diferença estatística significativa entre a média das inclinações das três curvas de calibração em cada meio.

A expressão usada para o cálculo do valor de t -Student foi:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{\text{comb}} \sqrt{\frac{N_1 + N_2}{N_1 N_2}}}$$

Esta expressão é utilizada quando as variâncias dos dois conjuntos de medidas são iguais. Nesta expressão s_{comb} é também conhecido como s agrupado e é calculado pela expressão:

$$s^2 = \{(n^1 - 1)s_1^2 + (n^2 - n_1)s_2^2\}/(n_1 + n_2 - 2)$$

No caso dos dois conjuntos de medida apresentarem variâncias diferentes utiliza-se outra expressão para o cálculo de t :

$$t = (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)/(s^2_1/n_1 + s^2_2/n_2)^{1/2}$$

Onde o número de graus de liberdade é calculado pela expressão:

$$\left(\frac{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2}{\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1 + 1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2 + 1}} \right) - 2$$

Os valores calculados de t por qualquer das duas expressões deve ser comparado com valores tabelados para números de grau de liberdade específicos. Caso estes valores calculados sejam menores que o valor tabelado, a Hipótese nula, $H_0: \mu_1 = \mu_2$ é verdadeira e não existe diferença estatística, a um determinado nível de confiabilidade, entre as médias das inclinações, e esse resultado pode ser interpretado como se não ocorresse efeito de matriz na determinação do analito. Nesse caso, é possível utilizar a estratégia de calibração aquosa. Em caso contrário, a hipótese nula é falsa e há efeito de matriz na determinação do analito na matriz, e a estratégia a ser utilizada é a calibração por adição de padrão.

O grau de confiabilidade nos testes t aplicados na avaliação da seletividade das metodologias foi igual a 95%.

4.9.3 Limite de detecção e Limite de quantificação

4.9.3.1 Cálculo de LOD e LOQ para as metodologias para determinação de metais em sedimentos e peixes por Espectrometria de Absorção Atômica

Segundo a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), o limite de detecção (LOD) é definido como sendo “a concentração ou quantidade de analito derivada do menor sinal que pode ser medido com confiabilidade analítica razoável”. Outra definição para LOD é: a concentração mínima que permite afirmar sobre a presença ou ausência de um determinado analito em uma amostra. Já o limite de quantificação (LOQ) é definido como sendo a menor concentração do analito que pode ser quantificado com um nível de confiabilidade razoável por um método analítico específico (IUPAC, 1997). Existem várias definições e formas de se realizar o cálculo para determinar o LOD e o LOQ. No

presente trabalho, optou-se por calcular o LOD e LOQ de acordo com os cálculos recomendados pela IUPAC (ICH Q2B, 1996).

As expressões empregadas para calcular os valores de LOD e LOQ para as metodologias de determinação de metais em peixes e sedimentos por GF AAS foram:

$$\text{LOD} = 3 s / A$$

$$\text{LOQ} = 10 s/A$$

Onde: s é a estimativa de desvio padrão da medida da concentração de dez brancos analíticos.

A é a inclinação da curva de calibração utilizada na medida da concentração do elemento no branco.

O uso dos coeficientes 3 e 10 para LOD e LOQ, respectivamente, estão relacionados à confiabilidade estatística desejada no estabelecimento destes parâmetros.

4.9.3.2 Cálculo de LOD e LOQ para as metodologias de determinação de metais em água por Espectrometria de Emissão Óptica

Utilizou-se a razão sinal/ruído (SBR) na avaliação da variação do sinal de fundo quando se alteram parâmetros de operação do ICP OES como a vazão de nebulização e a potência aplicada. Com o valor de SBR é possível avaliar também a sensibilidade das linhas analíticas (Ghine, 1998).

Para cálculo de SBR utiliza-se a expressão:

$$\text{SBR} = (I_a - I_b) / I_b$$

onde:

I_a = intensidade do sinal do analito

I_b = intensidade do sinal do branco

A concentração equivalente ao sinal de fundo (BEC) foi calculada para se obter a concentração do elemento com a intensidade correspondente ao fundo na linha espectral que se deseja usar. A fórmula para cálculo do BEC é apresentada a seguir (Ghine, 1998):

$$\text{BEC} = C_o/\text{SBR}$$

C_o = concentração do analito

Para o cálculo do LOD e LOQ foram utilizadas, respectivamente, as expressões:

$$\text{LOD} = (3 \times \text{RSD}_{\text{branco}} \times \text{BEC})/ 100$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{RSD}_{\text{branco}} \times \text{BEC})/ 100$$

Onde: RSD = a estimativa de desvio padrão relativo da medida do sinal de dez amostras do branco analítico.

4.9.4 Exatidão

A exatidão é definida como sendo a capacidade do método em produzir resultados que sejam concordantes com o valor considerado como verdadeiro (INMETRO, 2003). Utilizou-se neste trabalho estudo com materiais de referência certificados e estudos de recuperação com amostras artificialmente contaminadas.

Os materiais de referência certificados utilizados estão listados na secção 4.5. Para comparação dos resultados encontrados com os valores certificados dos materiais de referência, utilizou-se o teste t (Skoog, 2002).

$$\mu = \bar{X} \pm t \frac{s}{\sqrt{N}}$$

Onde μ é o valor considerado como verdadeiro, que é o valor apresentado no certificado do material de referência.

O valor calculado de t é comparado com valores tabelados para números de grau de liberdade específicos. A metodologia será considerada como exata se

o valor calculado de t para a concentração do analito na amostra certificada for menor que o valor tabelado. As implicações e interpretações deste comparativo são semelhantes ao apresentado na seção 4.9.2, valor de t calculado maior que valor de t tabelado para aquele nível de significância, indica que a concentração encontrada é diferente da concentração apresentada no certificado. Logo o uso do material de referência certificado não foi suficiente para assegurar a exatidão da metodologia para determinação do elemento estudado.

As amostras de água, tratada e de manancial, foram artificialmente contaminadas com soluções padrão dos analitos em três níveis diferentes de concentração, dentro da faixa de calibração para cada elemento. Os níveis foram: 30, 50 e 90 % do valor do padrão de maior concentração empregado na construção da curva de calibração. Estas amostras foram preparadas em HNO_3 2% v/v.

A avaliação da exatidão foi feita pelo cálculo do percentual de recuperação da concentração encontrada em relação ao valor esperado de cada nível de contaminação. A expressão matemática utilizada nesta avaliação foi:

$$ER = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} \cdot 100$$

Onde X_{lab} é o valor encontrado para a amostra artificialmente contaminada e X_v é o valor esperado (Skoog, 2002).

Considerou-se o intervalo de recuperação de 80 a 120% como suficiente para aceitação da exatidão da metodologia investigada (Hibbert, 1999).

4.9.5. Precisão

A precisão pode ser definida como a medida da concordância ou proximidade de medidas independentes feitas sob condições definidas (Welz, 1999). Pode ser também a capacidade de um método analítico em reproduzir as leituras realizadas sob as mesmas condições e em diferentes intervalos de tempo. A precisão pode ser expressa em termos de desvio padrão ou desvio padrão

relativo, e ambos os termos são dependentes da concentração do analito. Geralmente determinações em faixas de concentração mais baixa implicam em medidas de menor precisão que as obtidas em faixa de concentração mais alta (INMETRO, 2003). A precisão pode ser expressa pela repetibilidade que é medida quando se trabalha em condições semelhantes (por exemplo: mesmo operador, mesmo equipamento, mesmo laboratório, mesmo dia, etc.) e pode ser avaliada pela reprodutibilidade que é medida em condições diferentes (por exemplo: mesmo equipamento, outro analista, medidas em dias diferentes, etc.).

No presente estudo a precisão foi avaliada através da estimativa do desvio padrão relativo das amostras (DPR), que é calculada pela expressão (Skoog, 2002):

$$\text{DPR}(\%) = s / \bar{X} \times 100$$

Onde: s é igual à estimativa de desvio padrão das medidas

\bar{X} é igual à concentração média

Para a metodologia de determinação de metais em águas por ICP OES foram feitos cálculos DPR(%) intra dia e inter dia. Os cálculos de desvio padrão intra e inter dia foram feitos com as concentrações encontradas nas amostras artificialmente contaminadas nos três níveis de contaminação. O valor do DPR(%) intra dia é o DPR(%) médio calculado dos três níveis de concentração. O valor do DPR(%) inter dia é a média do DPR(%) intra dia de três dias consecutivos.

O valor máximo de DPR(%) aceitável é dependente da concentração do analito na matriz. Para as concentrações de 1000; 100; 10 e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$; os valores aceitáveis de DPR(%) são iguais a 11; 15; 21 e 30%, respectivamente (Guilhen, 2010).

Para as medidas em ICP OES utilizou-se também o teste de estabilidade do plasma. O teste utilizou medidas na linha Mg II 280,265 nm de amostras de água tratada e bruta artificialmente contaminadas com Mg na concentração 2,0 mg L^{-1} em HNO_3 % v/v. A avaliação foi feita pelo cálculo de RSD %. Foram feitos dois testes distintos: (a) o teste em curto período de tempo, que consistiu em 20

medidas consecutivas das amostras contaminadas e (b) o teste em longo período de tempo que consistiu em medidas a cada 15 minutos durante 2 horas totalizando 8 medidas.

A precisão das metodologias de determinação de metais em sedimentos e peixes foi avaliada pelo cálculo do DPR(%) das três leituras do material certificado contra a curva de calibração.

5. Resultados e discussão

5.1 Desenvolvimento de metodologia para determinação de metais em amostras de água por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

5.1.1 Otimização multivariada

O planejamento fatorial 2^3 avaliou o efeito das três variáveis sobre a razão Mg II/ Mg I e as possíveis interações entre as variáveis. As condições de cada experimento, bem como os valores da razão em contagens por segundos para as linhas iônicas e atômicas do Mg, são apresentadas na tabela seguinte.

Tabela 13. Leituras realizadas com o planejamento fatorial 2^3 para otimização da condição robusta do ICP OES na determinação de metais em águas

Experimento	Pressão (kPa)	Potência (kW)	Rotação (rpm)	Razão Mg II/Mg I (cps)
1	210	1,2	8	9,14
2	230	1,2	8	9,61
3	210	1,4	8	9,27
4	230	1,4	8	9,66
5	210	1,2	12	9,16
6	230	1,2	12	9,63
7	210	1,4	12	9,34
8	230	1,4	12	9,67

O gráfico de Pareto, figura 8, indica que a única variável significativa, ou seja, a que exerce maior influência sobre a robustez do plasma é a pressão do gás de nebulização, que está relacionada à vazão do gás de nebulização. A tendência indicada é positiva, o que significa que aumento da pressão do gás de

nebulização favorece o aumento do valor da razão Mg II/Mg I. A tendência indicada pelo planejamento fatorial é coerente com o princípio da técnica de ICP OES, pois se sabe que vazão alta do gás de nebulização é importante para impedir que ocorram processos de auto-absorção dos átomos do analito presentes no plasma de argônio. Os processos de auto-absorção levariam a atenuação da intensidade de emissão (Browner, 1992). O nível máximo, da pressão do gás de nebulização, que foi estudado no planejamento fatorial foi igual a 230 kPa que corresponde a um fluxo do gás de nebulização igual a $0,6 \text{ L min}^{-1}$. O valor de referência em para esta variável que o equipamento de plasma opera em condição robusta é igual a $0,7 \text{ L min}^{-1}$ (Brenner, 2000). Logo a tendência máxima indicada como significativa para esta variável deve ser otimizada em valores próximos a 230 kPa ($0,6 \text{ L min}^{-1}$) para se alcançar a condição robusta.

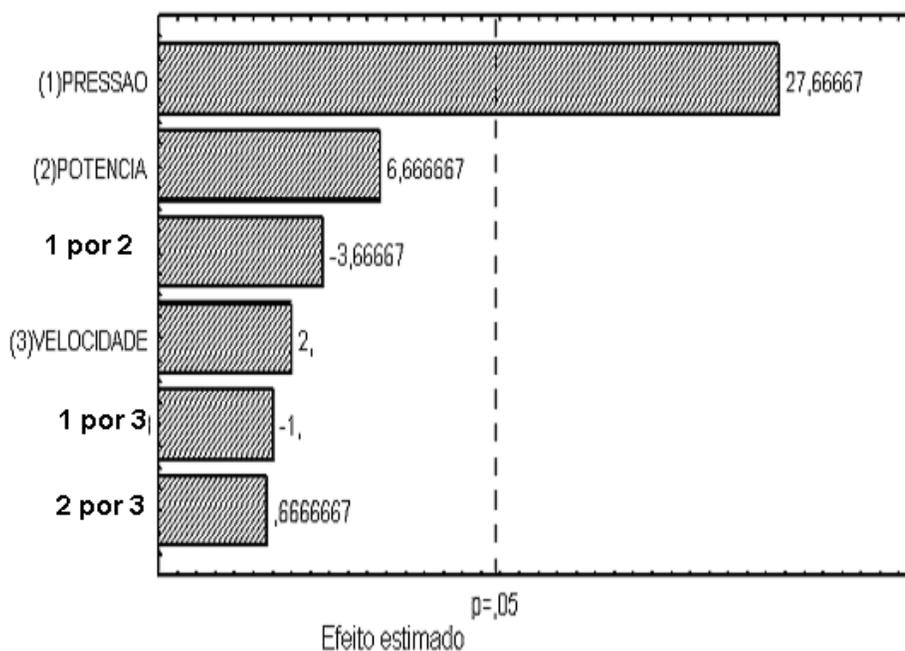


Figura 8. Gráfico de pareto para a otimização da condição robusta do ICP OES para determinação de metais em água

Apenas uma dentre as três variáveis avaliadas no planejamento fatorial apresentou influência significativa sobre a robustez do plasma. Por isso, optou-se em fazer a otimização da condição robusta de forma univariada. As variáveis que não foram significativas, potência e rotação da bomba, foram mantidas nos níveis

positivos apontados no gráfico de pareto, 1,4 kW e 12 rpm, respectivamente. O valor de 12 rpm para a velocidade de introdução da amostra no plasma corresponde a um fluxo da amostra igual a $1,0 \text{ L min}^{-1}$. A variação na pressão do gás de nebulização foi feita em valores próximos ao nível máximo de 230 kPa. A razão Mg II/Mg I alcançou maior valor em pressão igual a 235 kPa conforme apresentado no gráfico da figura 9 indicando que esta é a condição robusta de operação do plasma. Observa-se no mesmo gráfico que valores maiores de pressão causam a diminuição do valor da razão Mg II/Mg I. Sabe-se que o aumento da vazão do gás de nebulização causa a formação de gotas maiores no aerossol, e que demandam maior energia do plasma para os processos de dessolvatação e atomização. Conseqüentemente, há redução de energia disponível para os processo de ionização e emissão provocando uma diminuição do valor da razão Mg II/Mg I (Browner, 1992). Outra conseqüência do aumento da pressão do gás de nebulização é a diminuição do tempo de residência dos átomos do analito no plasma, com diminuição da intensidade da emissão (Brenner, 2000).

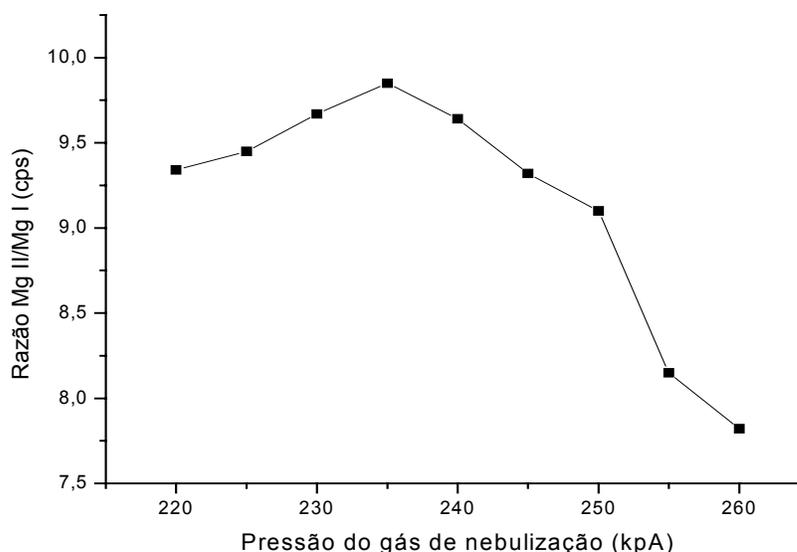


Figura 9. Otimização univariada da condição robusta do ICP OES para determinação de metais em água

Embora a potência de 1,4 kW tenha produzido o maior valor da razão Mg II/Mg I, indicando que esta é a condição robusta, sabe-se que valores altos de potência podem aumentar o desgaste da tocha (Brenner, 2000). Para avaliar a possibilidade de minimizar esses efeitos, fez-se outras leituras na condição otimizada, potência de plasma igual a 1,20 e 1,30 kW. Os resultados obtidos em cada uma destas condições foram comparados individualmente com o valor da razão obtida em potência igual a 1,40 kW. A comparação foi feita por meio de um teste t de student. Os resultados destes testes indicaram que houve diferença estatística significativa a um nível de 95% entre as medidas feitas em 1,20 e 1,40 kW. No entanto esta diferença não foi encontrada entre as leituras em 1,30 e 1,40 kW, o que possibilitou realizar os experimentos no ICP OES em uma potência mais baixa que a otimizada inicialmente, minimizando a deterioração da tocha do plasma. A tabela 14 apresenta as condições otimizadas do ICP OES. O uso da potência de 1,30 kW, ao invés de 1,40 kW, possibilitou o alcance de vida útil de cerca de dez meses para a tocha de quartzo. A durabilidade recomendada pelo fabricante do equipamento é de seis meses (Varian, 1999).

Considerou-se satisfatória a operação do ICP OES com potência igual a 1,30 kW na determinação simultânea de 20 constituintes inorgânicos em dois tipos de água diferentes. A potência empregada neste estudo foi inferior a utilizada por Faraji e colaboradores (1,55 kW) na determinação de seis elementos (Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Zn) em amostras de água natural após procedimento de pré-concentração (Faraji, 2009). Acredita-se que o emprego de otimização adequada da condição robusta tenha possibilitado o uso de potência inferior a outros estudos da literatura para a mesma matriz.

Em outro trabalho, o plasma foi operado em uma potência de 0,8 kW. No entanto o único analito estudado foi o Zn presente em amostras de água após procedimento de pré-concentração (Escudero, 2010).

Tabela 14. Condições otimizadas de operação do ICP OES na determinação de metais em águas

Potência do Plasma (kW)	1,30
Pressão do gás de nebulização (kPa)	235*
Velocidade da bomba que introduz a amostra (rpm)	12**
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Diâmetro do tubo injetor (mm)	2,0
Interface	end-on gas (cone frio)

* Corresponde a 0,7 L min⁻¹

** Corresponde a 1,0 mL min⁻¹

5.1.2 Linearidade e seletividade (efeito de matriz)

Ocorreu diferença significativa entre os valores das inclinações das curvas em água Milli Q e em água tratada para Ca e Mg. Para o Cu diferença foi observada entre a curva em água Milli Q e em água de manancial. Para o Cr, o efeito de matriz foi verificado em água tratada e água de manancial. As curvas de calibração para determinação de Fe em água de manancial apresentaram valores de coeficiente de correlação menores que 0,99, indicando linearidade insuficiente (Guilhen, 2010). Para os elementos que apresentaram efeito de matriz e linearidade insatisfatória, foram feitas alterações das linhas de emissão. As mudanças tiveram como objetivo eliminar potenciais interferências que poderiam produzir os efeitos de matriz observados. As linhas de emissão 267,716 nm do Cr e 259,940 nm do Fe apresentam uma linha de Mn próxima. O manganês está naturalmente presente em água de rios e lagos em concentrações que variam de 10 a 100 µg L⁻¹ (Azevedo, 2003) e esta presença pode ter interferido nas medidas do Cr e do Fe. O efeito de matriz para o Mg e para o Cu pode estar relacionado a algum tipo de interferência do Na sobre as linhas anteriormente utilizadas.

As leituras das curvas de calibração para determinação de Ca, Mg, Cu e Cr nas linhas de emissão alternativas, não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre as estratégias de calibração, o que permite afirmar que não houve efeito de matriz na determinação destes analitos após alteração das linhas analíticas. As alterações das linhas são apresentadas na tabela 15.

Tabela 15. Linhas analíticas alteradas de alguns elementos na determinação de metais em água por ICP OES

Elemento	Linha anterior (nm)	Linha alterada (nm)
Ca	396,847	317,933
Cr	267,716	357,868
Cu	259,940	327,395
Fe	259,940	238,204
Mg	279,115	279,553

Os resultados da média dos coeficientes de correlação e da média das inclinações das curvas nos três meios para as novas linhas de Ca, Cr, Cu, Fe e Mg e dos demais elementos são apresentados na tabela 16.

Estes resultados permitem concluir que é possível utilizar a estratégia de calibração com soluções padrão preparadas em água Milli Q nos estudos subsequentes. A calibração com soluções padrão preparadas em água Milli Q é uma estratégia de trabalho menos laboriosa que a calibração por adição de analito e é especialmente vantajosa para laboratórios de rotina que analisam rotineiramente um grande número de amostras similares.

Observou-se para o Fe que o valor do coeficiente de correlação para a curva em água de manancial foi inferior a 0,99. O valor da inclinação da curva por adição de padrão para este elemento apresentou diferença estatística em relação a curva de calibração aquosa maior que 95 %. Este comportamento apresentado pelo Fe em água de manancial, nos estudos de linearidade e de efeito de matriz, pode estar associado à presença do elemento na amostra de água utilizada.

Tabela 16. Avaliação da inclinação das curvas de calibração e dos coeficientes de correlação linear na determinação de metais em água por ICP OES

Elemento	Curva em água Milli Q (n = 9)		Curva em água tratada (n = 9)		Curva em água de manancial (n = 9)	
	Inclinação	r	Inclinação	r	Inclinação	r
Ag I	33363	1,000	32937	0,9989	33260	0,9998
Al I	20639	0,9995	20773	0,9988	20496	0,9998
B I	22507	0,9997	22699	1,000	22444	1,000
Ba II	574783	1,000	568508	0,9999	578377	1,000
Be I	152525	0,9999	152759	1,000	152213	1,000
Ca I	2214410	0,9983	1939270	0,9995	2214448	0,9985
Cd II	37445	0,9999	37537	0,9999	37582	0,9999
Co II	15354	0,9999	15365	1,000	15513	1,000
Cu I	26184	1,000	25232	0,9997	25764	0,9997
Cr	13896	0,9994	14335	0,9868	14589	0,9993
Fe II	8593	0,9945	9348	0,9968	6816	0,9160
K I	43437	0,9993	44097	0,9996	44702	0,9998
Li	3516759	0,9998	3538277	1,000	35652445	0,9999
Mg II	668551	0,9994	682120	0,9993	660227	0,9994
Mn II	184143	0,9999	186481	1,000	184833	0,9997
Na I	433611	0,9997	442798	0,9997	449004	0,9999
Ni	7032	0,9999	7020	0,9999	7099	0,9999
Pb II	2013	0,9995	2000	0,9999	2034	0,9999
V II	34892	0,9999	35266	1,000	352044	0,9999
Zn II	19197	0,9999	19237	0,9999	19160	0,9999

r = coeficiente de correlação

5.1.3 Limites de Quantificação e Detecção

Os valores de SBR, BEC, LOD e LOQ obtidos para os elementos estudados, bem como os valores máximos permitidos para cada metal em água de acordo com a legislação específica são mostrados na tabela 17. As fórmulas empregadas no cálculo destes parâmetros são apresentadas na secção 4.9.

Tabela 17. Valores de SBR, BEC, LOD, LOQ para a determinação de metais em água por ICP OES

Elemento	SBR*	BEC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Portaria 518 MS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CONAMA 357 ($\mu\text{g L}^{-1}$)**
Ag	3,77	1,33	0,510	1,70		10,0
Al	13,4	14,9	13,1	43,7	200	100
B	27,8	9,50	21,1	68,8		500
Ba	223	0,895	1,08	3,62	700	
Be	528	0,0381	0,0520	0,174		40,0
Ca	1199	0,833	2,53	8,42		
Cd	18,6	0,107	0,171	0,570	5,00	1,00
Co	39,2	0,510	0,305	1,02		50,0
Cr	4,25	4,70	4,62	15,4	50,0	50,0
Cu	5,15	0,971	0,363	1,21	2000	9,00
Fe	3,42	1,03	0,215	0,798	300	300
K	27,0	37,0	26,7	89,0		
Li	836	1,20	0,671	2,24		2500
Mg	287	3,48	1,21	4,03		
Mn	371	0,269	0,210	0,703	100	100
Na	50,1	20,0	83,6	279	200000	
Ni	7,25	2,76	1,90	6,34		25,0
Pb	7,76	1,29	0,628	2,09	10,0	10,0
V	922	0,0109	0,0104	0,0348		100
Zn	45,8	2,18	4,00	13,3	5000	180

* Calculado com o padrão de menor concentração de cada analito na curva de calibração ** Padrão para Classe Especial

Conforme pode se observar na tabela 17, os valores de LOQ da metodologia são suficientes, quando comparados aos valores limites da legislação, para determinação direta dos elementos sem a necessidade de nenhum procedimento de pré-concentração da amostra. Alguns elementos, como o Ba, apresentaram valor do LOQ cerca de 200 vezes menor que o valor máximo permitido pela Portaria 518 do Ministério da Saúde. O valor do LOQ para o Pb é em torno de 5 vezes menor que a concentração máxima estabelecida pela Resolução 357 do CONAMA.

A capacidade do método em determinar, com segurança analítica, concentrações baixas dos analitos permite que a metodologia possa ter aplicações em outros tipos de monitoramento, além do controle pelas legislações citadas.

Os valores do LOD obtidos para Al, Cd, Co, Mn, Pb e Zn foram menores que os encontrados em outro estudo onde se fez, o uso de múltiplas linhas de emissão para a determinação destes elementos em água por ICP OES sem a presença de concomitantes como cálcio e sódio. Nesse trabalho, os valores do LOD foram iguais a 7,1; 0,5; 4,4; 3,3; 2,8 e 6,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Schiavo, 2009).

Os resultados de LOD encontrados em um trabalho em que utilizou nanopartículas de Fe_3O_4 cobertas com ácido decanóico como adsorvente para extração em fase sólida de Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Zn são próximos aos valores apresentados na tabela 17 para estes elementos (Faraji, 2009). Para o Pb o valor do estudo de Faraji e colaboradores foi igual a 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ e no estudo apresentado neste trabalho o valor alcançado sem procedimentos de pré-concentração foi igual 0,628 $\mu\text{g L}^{-1}$.

5.1.4 Exatidão

Os ensaios para avaliação da exatidão da metodologia proposta foram feitos por estudo de recuperação e com uso de materiais de referência certificado, cujos resultados são apresentados na tabela 18 e 19, respectivamente.

5.1.4.1 Estudo de recuperação

A tabela 18 apresenta os valores dos estudos de recuperação para cada metal nos dois tipos de água e nos três níveis de contaminação investigados.

Tabela 18. Testes de recuperação para determinação de metais em águas por ICP OES

Elemento (matriz)	(n = 9)		
	3,0 µg L ⁻¹ (%)	5,0 µg L ⁻¹ (%)	9,0 µg L ⁻¹ (%)
Cd (manancial)	104	103	99,9
Cd (tratada)	105	102	99,3
	7,5 µg L ⁻¹ (%)	12,5 µg L ⁻¹ (%)	22,5 µg L ⁻¹ (%)
Ag (manancial)	98,1	100	99,5
Ag (tratada)	96,4	98,2	98,1
Cu (manancial)	104	106	98,6
Cu (tratada)	95,0	97,3	97,5
	15,0 µg L ⁻¹ (%)	22,5 µg L ⁻¹ (%)	45,0 µg L ⁻¹ (%)
Pb (manancial)	103	104	100
Pb (tratada)	103	102	99,3
	30,0 µg L ⁻¹ (%)	50,0 µg L ⁻¹ (%)	90,0 µg L ⁻¹ (%)
Be (manancial)	101	101	99,5
Be (tratada)	102	101	99,4
Co (manancial)	104	103	101
Co (tratada)	103	102	99,8
Cr (manancial)	126	110	106
Cr (tratada)	108	110	101
Fe (manancial)	81,4	112	117
Fe (tratada)	113	88,3	82,3
Ni (manancial)	104	103	101
Ni (tratada)	102	102	99,8

Tabela 18. Testes de recuperação e de precisão para determinação de metais em águas por ICP OES

Elemento (matriz)	(n = 9)		
	150 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	300 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	450 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)
Mn (manancial)	104	103	99,4
Mn (tratada)	104	102	99,6
V (manancial)	100	101	100
V (tratada)	101	101	99,6
Zn (manancial)	103	103	100
Zn (tratada)	103	102	100
	300 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	900 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)
Al (manancial)	102	102	98,7
Al (tratada)	101	100	97,3
B (manancial)	94,3	97,3	97,7
B (tratada)	102	101	99,3
Ba (manancial)	103	102	100
Ba (tratada)	103	101	100
	1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	2500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	4500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)
Ca (manancial)	112	109	96,7
Ca (tratada)	96,7	81,4	89,0
K (manancial)	98,2	100	101
K (tratada)	94,3	97,5	98,7
Li (manancial)	106	105	101
Li (tratada)	107	105	101
Mg (manancial)	108	106	98,9
Mg (tratada)	95,7	91,4	87,1
Na (manancial)	100	103	102
Na (tratada)	96,4	98,5	100

Observa-se na tabela 18 que os resultados de recuperação são satisfatórios, com valores na faixa de 80 a 120 % para todos os analitos.

5.1.4.2 Estudo de exatidão com material certificado

A tabela 19 apresenta os resultados da avaliação da exatidão com material de referência certificado.

Tabela 19. Avaliação da exatidão com material de referência certificado 1643e na determinação de metais em água por ICP OES

(n = 3)			(n = 3)		
$\bar{X} \pm s$			$\bar{X} \pm s$		
Elemento	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor certificado* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Elemento	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor certificado* ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Al	155,3 ± 11,7	141,8 ± 8,6	Fe	68,3 ± 1,2	98,1 ± 1,4
Ag	1,00 ± 0,35	1,062 ± 0,075	K	2 010 ± 29	2 034 ± 29
B	155,5 ± 6,1	157,9 ± 3,9	Li	12,1 ± 0,4	17,4 ± 1,7
Ba	544 ± 11	544,2 ± 5,8	Mg	8 211 ± 102	8 037 ± 98
Be	13,5 ± 0,6	13,98 ± 0,17	Mn	39,3 ± 0,7	38,97 ± 0,45
Ca	32 608 ± 600	32 300 ± 1 100	Na	21103 ± 110	20 740 ± 260
Cd	6,19 ± 0,22	6,568 ± 0,073	Ni	63,5 ± 1,3	62,41 ± 0,69
Co	27,0 ± 0,1	27,06 ± 0,32	Pb	21,2 ± 0,5	19,63 ± 0,21
Cu	22,8 ± 0,8	22,76 ± 0,31	V	39,0 ± 3,8	37,86 ± 0,59
Cr	19,4 ± 2,8	20,40 ± 0,24	Zn	78,2 ± 1,8	78,5 ± 2,2

* NIST 1469e

Os resultados encontrados foram concordantes para todos os elementos determinados, com exceção do Fe, cujo valor encontrado foi bem inferior ao valor certificado. Pb e Li apresentaram diferenças estatísticas significativas a um nível de 95 % de confiança entre os valores encontrados e certificados, no entanto os resultados nos estudos de recuperação apresentados na tabela 18 atestam a exatidão do método para Pb, Fe e Li.

5.1.5 Precisão

5.1.5.1 Precisão inter dia e intra dia

Os valores de DPR(%) dos ensaios inter dia para os analitos nas dois tipos de água são apresentados na tabela 20.

Tabela 20. Valores de desvio padrão relativo para a determinação de metais em água por ICP OES

Elemento (matriz)	DPR (%)			
	Intra Dia (n = 9)			Intra Dia (n = 27)
	1º Dia	2º Dia	3º Dia	
Ag (manancial)	1,47	1,83	2,70	2,28
Ag (tratada)	0,64	2,21	1,10	2,00
Al (manancial)	1,43	1,01	2,11	1,92
Al (tratada)	0,51	1,02	1,53	1,16
B (manancial)	1,04	0,56	1,78	2,16
B (tratada)	0,91	1,23	1,56	2,21
Ba (manancial)	0,83	0,51	1,31	1,39
Ba (tratada)	0,53	0,47	1,38	1,11
Be (manancial)	0,66	0,64	0,93	1,27
Be (tratada)	0,41	0,44	1,08	1,18
Ca (manancial)	1,48	1,59	1,97	3,87
Ca (tratada)	5,54	5,29	5,27	3,36
Cd (manancial)	1,10	1,40	1,27	1,69
Cd (tratada)	1,00	1,16	1,68	1,63
Co (manancial)	0,57	1,03	0,93	1,02
Co (tratada)	0,38	0,58	0,88	1,02
Cr (manancial)	4,97	8,67	7,74	6,88
Cr (tratada)	7,96	9,56	10,5	8,63

Tabela 20. Valores de desvio padrão relativo para a determinação de metais em água por ICP OES

Elemento (matriz)	DPR (%)			
	Intra Dia (n = 9)			Intra Dia (n = 27)
	1º Dia	2º Dia	3º Dia	
Cu (manancial)	4,23	3,96	2,56	3,95
Cu (tratada)	1,09	1,58	5,66	12,43
Fe (manancial)	10,4	7,79	9,84	11,2
Fe (tratada)	9,71	5,84	5,94	11,1
K (manancial)	1,15	0,70	2,49	1,82
K (tratada)	0,86	1,46	1,80	1,36
Li (manancial)	0,69	0,84	1,32	1,33
Li (tratada)	0,86	0,85	1,17	1,49
Mg (manancial)	0,69	0,79	1,55	1,17
Mg (tratada)	1,91	2,40	3,81	3,26
Mn (manancial)	1,04	0,79	2,45	2,07
Mn (tratada)	0,73	0,46	1,26	1,28
Na (manancial)	0,64	0,88	2,03	1,93
Na (tratada)	1,00	0,91	1,84	1,43
Ni (manancial)	0,70	0,81	0,89	1,14
Ni (tratada)	0,30	0,92	1,16	1,16
Pb (manancial)	1,74	2,37	2,77	3,67
Pb (tratada)	1,35	1,29	5,08	5,84
V (manancial)	0,62	0,43	1,61	1,40
V (tratada)	0,31	0,74	1,47	1,41
Zn (manancial)	0,76	0,74	1,59	1,19
Zn (tratada)	0,47	0,85	1,68	1,08

Os resultados de DPR(%) foram considerados satisfatórios. Os valores foram menores que 11% para as concentrações de 1 mg L⁻¹, menores que 15%

para as concentrações de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e menores que 21% para as concentrações de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Guilhen, 2010).

5.1.5.2 Teste de estabilidade do plasma

O teste de estabilidade de plasma foi realizado com leituras na linha de emissão do Mg II. O teste foi feito de duas formas. O teste em tempo curto, também chamado de “Short-Term Stability”, que foi feito com 20 medidas consecutivas da solução de Mg na concentração $2,0 \text{ mg L}^{-1}$. O valor do desvio padrão relativo foi igual a 0,961 %.

Em seguida foi feito o teste de tempo longo conhecido como “Long-Term Stability” que correspondeu a leituras a cada 15 minutos durante 2 horas da mesma solução empregada no teste de tempo curto. O valor do desvio padrão relativo foi igual a 2,01 %.

Trabalhos anteriores com ICP OES obtiveram valores de 1,33 e 1,5% para o teste de estabilidade de curto e longo prazo, respectivamente (Froes, 2009). Estes resultados são semelhantes aos encontrados neste estudo. Os resultados permitem concluir que é possível a determinação de um grande número de amostras pela metodologia desenvolvida sem perda de desempenho do aparelho.

5.2 Desenvolvimento de metodologia para determinação de metais em amostras de sedimentos por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

5.2.1 Otimização inicial das condições de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica

As suspensões entraram em ebulição no interior do tubo de grafite antes do programa de aquecimento alcançar a temperatura de pré-secagem. Então, o volume de suspensão introduzido e o tempo de duração da etapa de pré-secagem foram otimizados.

Volumes maiores que 20 μL crepitaram no interior do tubo provocando projeção de material para o exterior com conseqüente perda de sensibilidade e diminuição da precisão. Por isso, optou-se por introduzir no tubo 20 μL da suspensão, ao invés dos 40 μL usualmente utilizados para soluções aquosas. Apesar de ser um volume menor, produziram-se sinais analíticos em intensidade suficiente para continuidade do trabalho.

O tempo de duração da etapa de pré-secagem foi de 20 segundos, e não 3 segundos, como é recomendado pelo fabricante do equipamento da GBC. Conseguiu-se com este tempo otimizado, que a evaporação da amostra ocorresse de forma branda e progressiva, evitando-se perdas da amostra com os prejuízos já discutidos para a sensibilidade e a precisão. Na tabela 21 estão apresentadas as condições de operação do aparelho otimizadas de acordo como descrito na secção 4.7.2, bem como as massas e o tipo de sedimento utilizados no preparo de 1 mL da suspensão.

Tabela 21. Parâmetros instrumentais empregados do GF AAS da GBC para a construção de curvas de pirólise e atomização na determinação de metais em sedimentos

Elemento	λ (nm)	Fenda (nm)	Corrente (mA)	Time constant (s)	Massa de sedimento (mg)
Cu	324,0	0,5	3,0	0,1	100 *
Mn	279,5	0,2	5,0	0,2	10,0 **
Ni	232,1	0,2	4,0	0,5	100 **
Sn	286,3	0,5	8,0	0,3	100 **
Zn	213,9	0,5	5,0	0,2	100 *

* NRCC MESS - 2

** Sedimento da Lagoa da Pampulha

O Mn foi o único metal que teve massa empregada de 10 mg, para os demais se utilizou 100 mg. O motivo de se usar massa menor se deveu ao fato de o sedimento da lagoa apresentar em sua composição concentração relativamente

elevada do Mn. Esta concentração relativamente alta produz sinal analítico acima do limiar de proporcionalidade (Lei de Beer), então foi necessário usar uma massa menor de sedimento. Utilizou-se o sedimento NRCC MESS – 2 e não o sedimento da lagoa da Pampulha para otimizar as metodologias para a determinação de Cu e Zn, porque o sedimento da lagoa apresentava, em sua composição, alta concentração deste metal, e mesmo que se usasse uma massa menor do sedimento no preparo da suspensão, não seria suficiente para produzir sinal analítico de intensidade adequada.

O fator “time constant” foi otimizado para obter-se um sinal cujo formato fosse o mais atenuado possível. Os valores de “time constant” para cada analito são apresentados na tabela 21. O Ni necessitou de um tempo de “time constant” maior que os demais elementos. As figuras de 10 a 12 ilustram o efeito sobre o sinal analítico na mudança no valor do “time constant” para determinação de Mn em sedimentos.

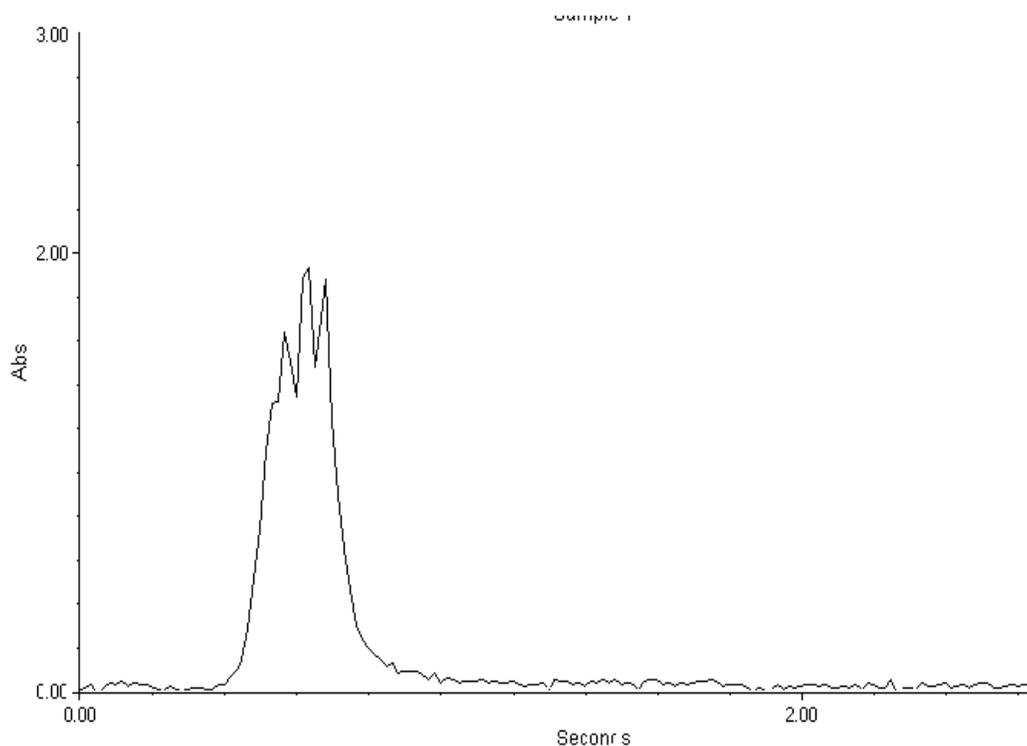


Figura 10. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,0 s.

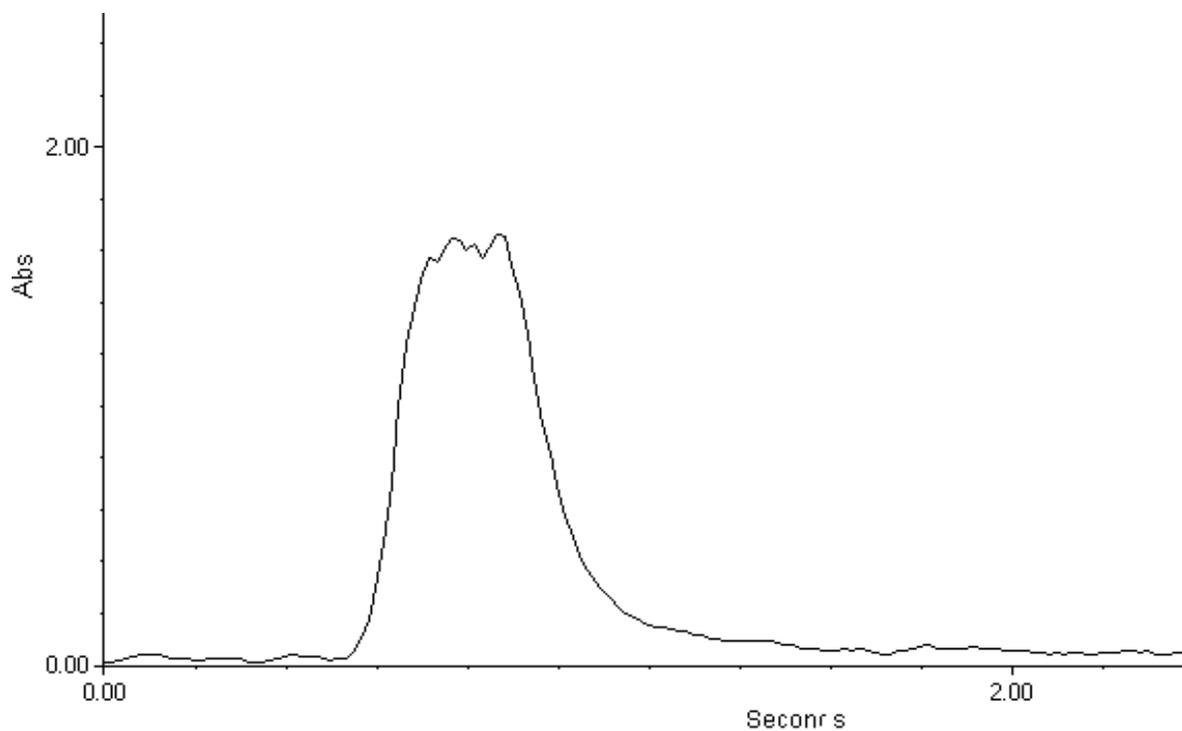


Figura 11. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,1 s.

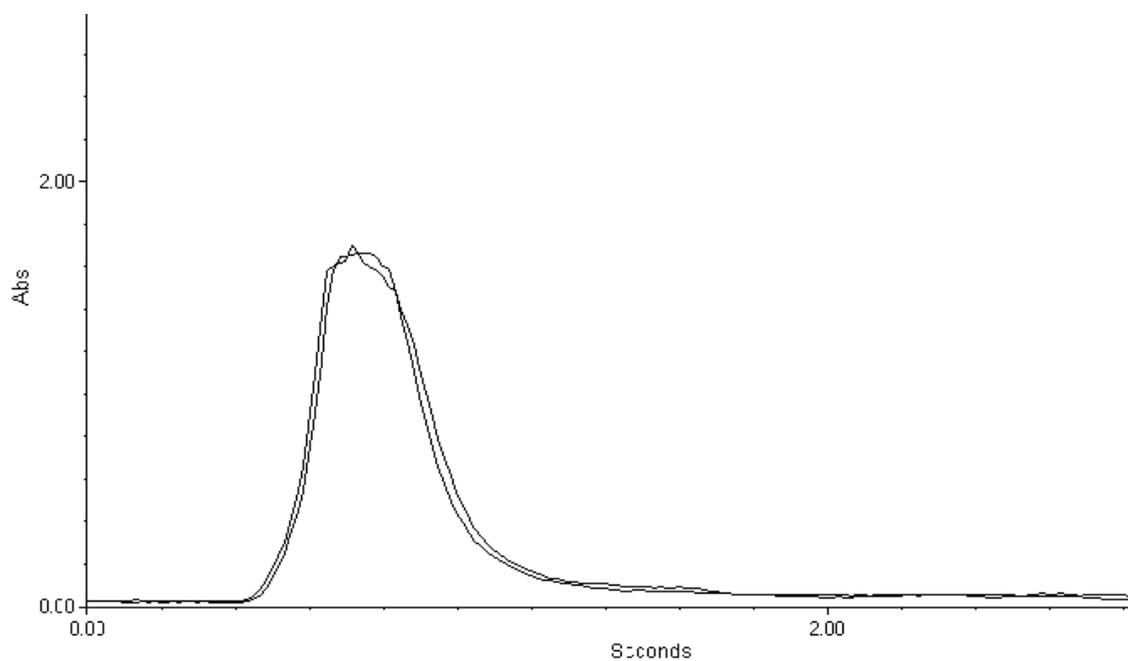


Figura 12. Sinal analítico para Mn em água, sem emprego de modificador permanente e “time constant” igual a 0,2 s.

5.2.2 Otimização univariada das metodologias de determinação de metais em sedimentos

Todas as medidas feitas na etapa de otimização das metodologias para cada metal e nos estudos para obtenção dos parâmetros de mérito apresentaram sinais de fundo adequadamente corrigidos pela lâmpada de deutério. Tendo em vista este aspecto os sinais analíticos apresentados em todas as tabelas das seções 5.2.2, 5.2.3 e 5.2.4 já são os sinais devidamente corrigidos.

Curvas de pirólise e atomização foram utilizadas para escolha do melhor modificador permanente para cada analito, bem como para otimizar as temperaturas de pirólise e atomização.

As suspensões foram preparadas conforme descrito na secção 4.5.2. Foi necessária a contaminação das suspensões para o Sn ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) e para o Ni ($200 \mu\text{g L}^{-1}$), porque os sedimentos não possuíam concentração suficientes destes metais para produção de sinal analítico de intensidade adequada. Para Cu, Mn e Zn não foi necessária executar a contaminação da suspensão.

Nas figuras das secções 5.2.2.1 a 5.2.2.5, são apresentadas as curvas de pirólise e atomização para cada modificador e para o não uso de modificador. A curva relacionada ao símbolo do elemento com o apóstrofo apresenta os valores de absorvância obtidos na otimização da temperatura de atomização com a temperatura de pirólise fixa, exemplo: Rh'. A curva relacionada ao símbolo do elemento sem o apóstrofo apresenta os valores de absorvância obtidos na otimização da temperatura de pirólise com a temperatura de atomização fixa, exemplo: Rh.

5.2.2.1 Metodologia para determinação de cobre em sedimentos

As curvas de pirólise e atomização na otimização do programa de temperatura do forno na determinação de Cu em sedimentos são apresentadas na figura 13.

O melhor desempenho foi alcançado sem uso de modificador permanente. Os máximos de absorção para o Cu foram observados em 700 e 2100 °C para as

temperaturas de pirólise e atomização, respectivamente. O não uso de modificador permanente para determinação de Cu é relatado nos primeiros estágios de aplicação da técnica. Nesses trabalhos iniciais com o Cu foram encontradas temperaturas de pirólise em torno de 1000 °C (Welz, 1999).

O melhor desempenho do Cu, na ausência de modificadores pode estar associada à forma química do elemento na matriz. Quando metais aparecem associados como nitratos, ocorre a decomposição do sal em óxidos de nitrogênio e óxidos do metal. O óxido do metal se decompõe em oxigênio e metal elementar em temperaturas acima de 1800 °C (Volynsky, 2000).

Outros pesquisadores obtiveram melhores desempenhos usando uma mistura de W-Rh na determinação de Cu em amostras de sedimentos digeridas com ácido clorídrico e nítrico (Lima, 2001). Com base nas curvas de temperatura de pirólise e de atomização e otimizando-se as demais etapas foi montado o programa de temperatura de forno que está representado na tabela 22.

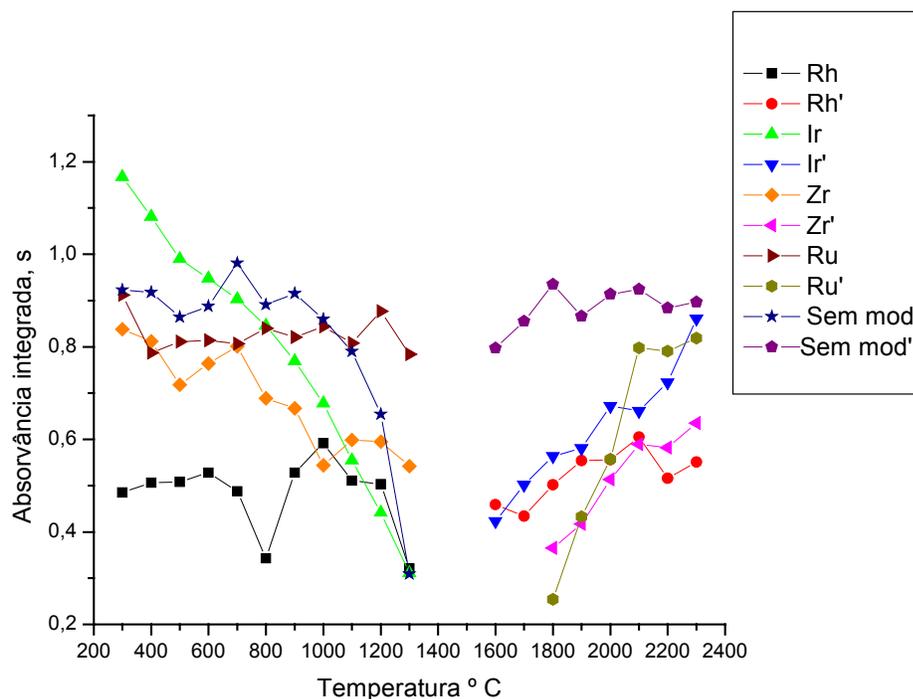


Figura 13. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Cu em suspensões de sedimentos

5.2.2.2 Metodologia para determinação de manganês em sedimentos

As curvas de pirólise e atomização na otimização do programa de temperatura do forno na determinação de Mn em sedimentos são apresentadas na figura 14.

Com o uso de Ru como modificador as melhores temperaturas de pirólise e atomização foram, respectivamente, 1200 e 2500 °C. A estabilidade do sinal do analito em temperaturas de pirólise até 1200 °C é adequada para a aplicação do método, pois pode-se assegurar a eliminação dos concomitantes da matriz. A temperatura de 1200 °C para a etapa de pirólise e o uso do Ru como modificador permanente foi relatado em outros trabalhos (Volynsky, 2004). A efetividade do Ru como modificador para o Mn pode estar associado à teoria ácido-base/macio-duro de Pearson, onde o Mn (ácido macio) se combinaria preferencialmente ao Ru (base macia), na formação de compostos intermetálicos que estabilizariam termicamente os átomos do analito, para que a matriz pudesse ser efetivamente eliminada na etapa de pirólise (Volynsky, 2000).

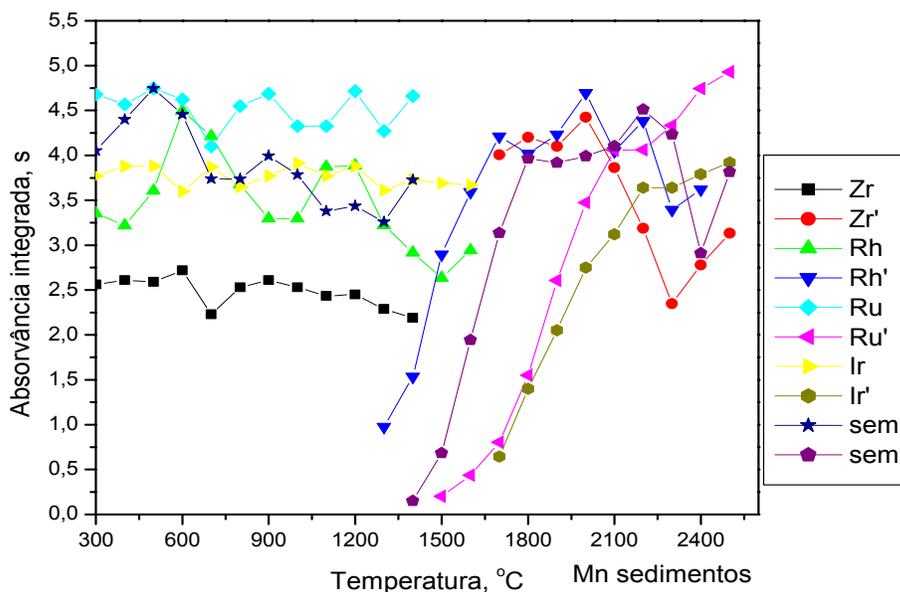


Figura 14. Curvas de pirólise e atomização para determinação de Mn em suspensões de sedimentos

Com base nas curvas de temperatura de pirólise e de atomização, e otimizando-se as demais etapas foi montado o programa de temperatura de forno que está representado na tabela 22.

5.2.2.3 Metodologia para determinação de níquel em sedimentos

As curvas de pirólise e atomização na otimização do programa de temperatura do forno na determinação de Ni em sedimentos são apresentadas na figura 15.

O modificador que apresentou o melhor desempenho foi o Rh. Com temperatura ótima de atomização em 2500 °C e de pirólise em 600 °C. Observa-se que em temperaturas de pirólise maiores que 600 °C ocorre uma queda significativa do sinal do analito.

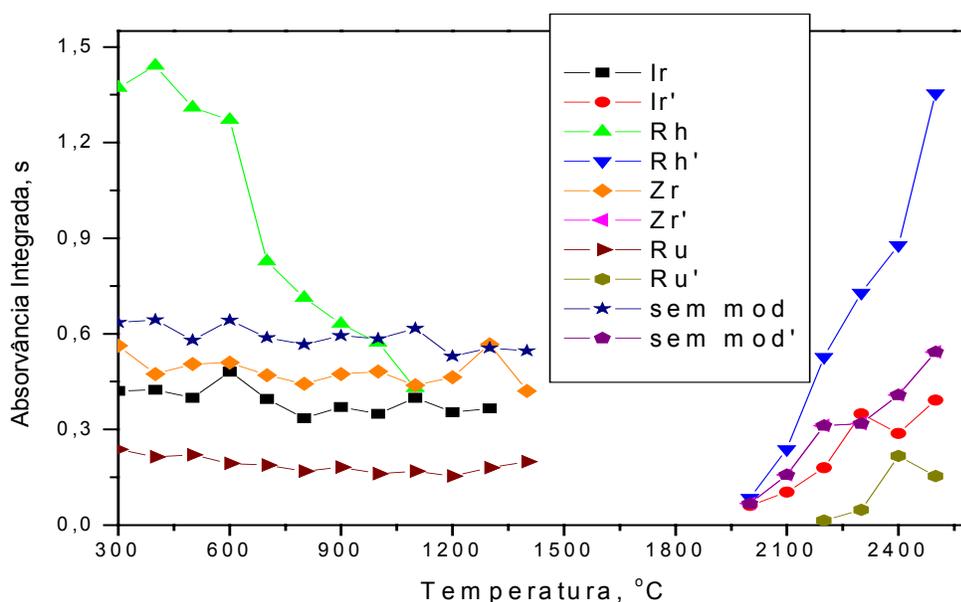


Figura 15. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Ni em suspensões de sedimentos

Este fato pode estar associado à volatilidade relativa do Ni, se comparado a outros metais determinados por GF AAS. De acordo com estudos anteriores, a

temperatura de atomização em que o Ni é determinado em tubos de grafite com aquecimento transversal é igual a 2500 °C, o que é concordante com os resultados em nosso estudo (Welz, 1999). O uso do Rh como modificador na determinação de Ni em sedimentos é também relatado por outros pesquisadores em um trabalho de revisão (Volynsky, 2004).

Com base nas curvas de temperatura de pirólise e de atomização, e otimizando-se as demais etapas foi montado o programa de temperatura de forno que está representado na tabela 22.

5.2.2.4 Metodologia para determinação de estanho em sedimentos

As curvas de pirólise e atomização na otimização do programa de temperatura do forno na determinação de Sn em sedimentos são apresentadas na figura 16.

O estanho apresentou máximo de absorção na temperatura de atomização de 2500 °C com o Ir como modificador. O comportamento da curva de pirólise foi típico para GF AAS sendo a temperatura de 900 °C em que ocorreu atenuação significativa do sinal analítico. No entanto, o sinal analítico de maior intensidade para o Sn durante a otimização da temperatura de pirólise ocorreu com o uso do Zr como modificador. Tal fato pode ser explicado pela característica do Zr em formar compostos com o Sn, que são estáveis termicamente, o que permite trabalhos em temperaturas de pirólise maiores. O comportamento do Sn, em presença de Ir, na otimização da temperatura de atomização, pode estar relacionado à capacidade do Sn em formar compostos mais estáveis em temperaturas mais altas com este modificador. O irídio é o elemento, dentre aqueles utilizados como modificador químico neste estudo, que possui o maior ponto de ebulição (Volynsky, 2000).

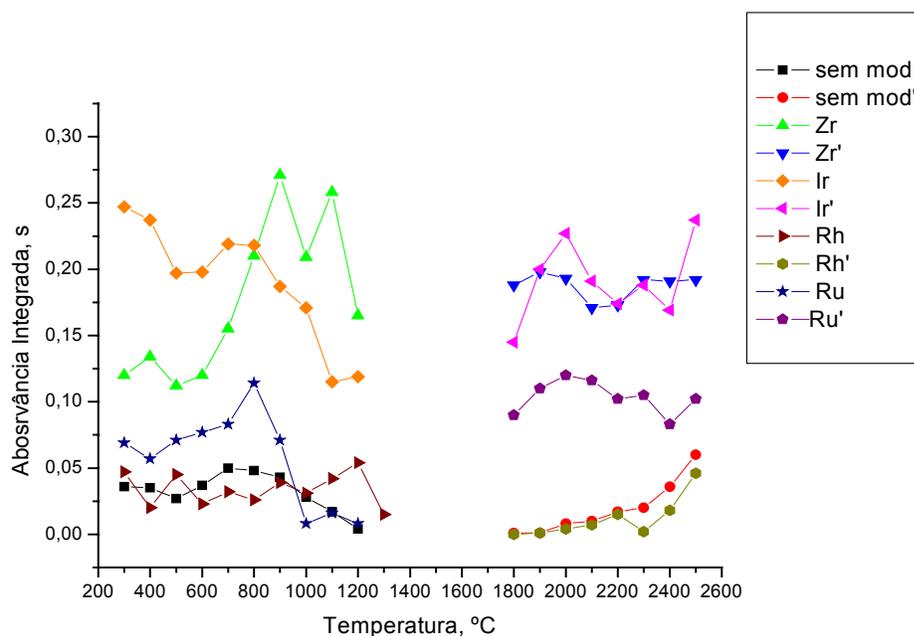


Figura 16. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Sn em suspensões de sedimentos

Estudos de Slaveykova e colaboradores mostraram que uma mistura de Ir+Mg apresentou melhor desempenho como modificador para determinação de Sn em amostras de sedimentos e plantas (Volynsky, 2004). O número de queimas do tubo de grafite, ou ciclos de atomização, (1520) em nosso estudo empregando Ir foram compatíveis com os valores (1750) encontrados por Silva e colaboradores em um estudo empregando Ru como modificador para determinar estanho em amostras de sedimentos após extração com água régia. Esse estudo contribui para se destacar mais uma característica favorável ao uso de modificadores permanentes, que é o aumento da vida útil do tubo de grafite, mesmo em matrizes agressivas com misturas de ácidos e peróxidos, ao contrário do que normalmente é obtido com uso de modificadores em solução (Silva, 1999).

Com base nas curvas de temperatura de pirólise e de atomização, e otimizando-se as demais etapas foi montado o programa de temperatura de forno que está representado na tabela 22.

5.2.2.5 Metodologia para determinação de zinco em sedimentos

As curvas de pirólise e atomização na otimização do programa de temperatura do forno na determinação de Zn em sedimentos são apresentadas na figura 17.

O melhor modificador para determinação de Zn em sedimentos foi o Rh. A temperatura de atomização foi igual a 1800 °C e a de pirólise foi 800 °C, uma temperatura suficiente para eliminação dos concomitantes de matriz que podem interferir na determinação do analito. Esta temperatura é concordante com a temperatura de pirólise máxima obtida por outros pesquisadores trabalhando com Zn utilizando Rh como modificador (Volynsky, 2004).

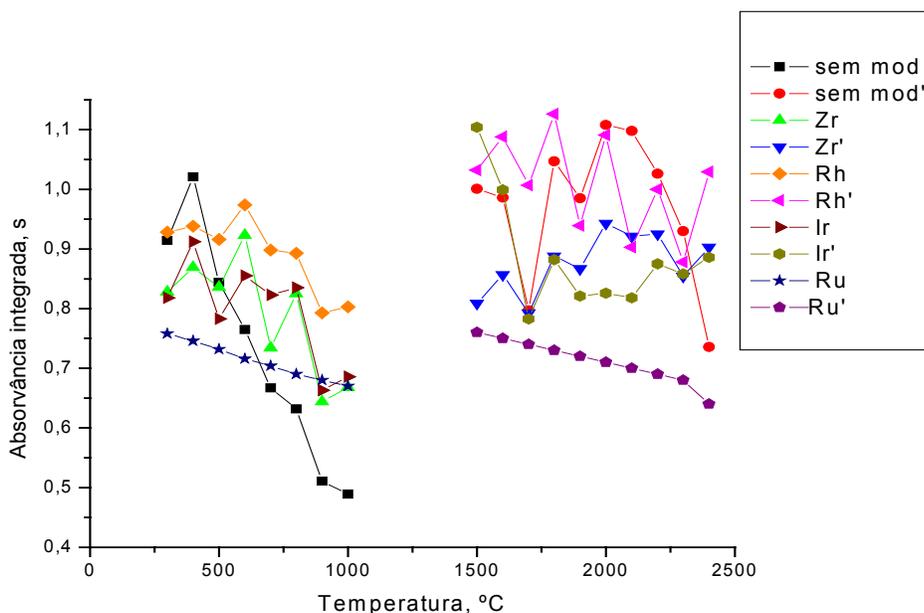


Figura 17. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Zn em sedimentos

Registros na literatura indicam que, independente do tipo de aquecimento do tubo de grafite, transversal ou longitudinal, a temperatura da etapa de atomização empregada é normalmente entre 1600 e 1800 °C, o que é concordante com os resultados deste estudo (Welz, 1999). A intensidade de absorção do Zn a

400 °C durante a otimização da temperatura de pirólise sem o emprego de modificador apresentou um valor mais alto que para a medida a mesma temperatura em presença do Rh. No entanto, as leituras feitas sem uso do modificador apresentaram sinais analíticos que não retornavam à linha de base e com correção inadequada do sinal de fundo, dificultando a interpretação dos sinais obtidos.

Com base nas curvas de temperatura de pirólise e de atomização, e otimizando-se as demais etapas foi montado o programa de temperatura de forno que está representado na tabela 22.

5.2.3 Parâmetros de mérito

A tabela 22 apresenta os programas de forno otimizados foram feitos os estudos para obter os parâmetros analíticos de mérito.

Tabela 22. Programa de temperatura de forno otimizado univariadamente para determinação de metais em sedimentos por GF AAS

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Fluxo de Argônio (mL min ⁻¹)
Pré-Secagem	90	15,0	20,0	250
Secagem	140	3,0	4,0	250
Pirólise	700 ^a ; 1200 ^b ; 600 ^c ; 900 ^{d, e}	4,0	20	250
Pirólise	700 ^a ; 1200 ^b ; 600 ^c ; 800 ^{d, e}	0,0	2,0	0,0
Atomização	2100 ^a ; 2500 ^{b, c, d} ; 1800 ^e	1,0 ^{a, b} ; 0,4 ^{c, d, e}	2,0	0,0
Limpeza	2800	2,0	2,0	250

a = Cu; b = Mn; c = Ni; d = Sn; e = Zn

5.2.3.1 Massa característica

Os valores das massas características para cada analito e as estratégias de modificação permanente investigadas são apresentados na tabela 23.

Tabela 23. Massas características obtidas para as melhores condições de temperaturas de pirólise e atomização na determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS

Analito	(pg)					Sem modificador	Recomendada
	Zr	Rh	Ir	Ru			
Cu	4,8	5,0	3,5	3,4	3,3	2,5	
Mn	1,8	1,0	1,5	0,9	1,2	0,7	
Ni	120	36	132	240	85	5	
Sn	32	176	38	59	180	22	
Zn	1,4	1,9	1,4	1,7	1,3	0,8	

Observa-se que os valores de massa característica de todos os elementos foram próximos aos recomendados pelo fabricante do equipamento, exceção feita ao Ni que apresentou valor igual a 36 pg, para o Rh como modificador permanente, superior ao valor de 5 pg recomendado. No entanto, isto não pode ser considerado, isoladamente, como evidência de que a otimização da metodologia tenha sido insuficiente. Os valores recomendados de massa característica são obtidos em condições ideais como, emprego de reagentes ultrapuros, uso de tubos de grafite em excelentes condições e de aparelhos recém fabricados, ou seja, na plenitude de seu funcionamento. Além disso, a massa característica recomendada é independente da matriz e é avaliada através de medidas do sinal do analito em soluções aquosas. No presente estudo trabalhou-se com amostras de sedimentos que são matrizes complexas e que podem causar interferências que provocam atenuação do sinal analítico, como por exemplo, a presença de matéria orgânica (Welz, 1999). Além disso, a forma de introdução da

amostra no interior do tubo de grafite, por meio de suspensão e sem uso de estratégia de pré-concentração, pode não ter sido suficiente para se alcançar sensibilidade adequada para o Ni.

5.2.3.2 Linearidade e efeito de matriz

Para avaliação da linearidade e do efeito de matriz foram construídas seis curvas de calibração, sendo três em água Milli Q (curva aquosa) e três no diluente usado no preparo das suspensões de sedimentos (mistura HNO₃ e H₂O₂). Os resultados das inclinações médias para cada elemento na curva preparada no diluente e na curva aquosa estão na tabela 24.

As curvas de calibração foram consideradas lineares com valores dos coeficientes de correlação maiores que 0,99 para todos os elementos. Não se verificou diferença estatística significativa entre as duas estratégias de calibração. Estes resultados demonstram que é possível determinar metais em sedimentos por meio de suspensões preparadas com HNO₃ e H₂O₂ utilizando calibração aquosa.

Tabela 24. Avaliação da inclinação das curvas de calibração aquosa e em diluente na determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS

Elemento	Curva aquosa (n = 9)		Curva no diluente (n = 9)	
	Inclinação	r	Inclinação	r
Cu	0,0262	1,00	0,0281	0,999
Mn	0,00714	0,999	0,00709	0,999
Ni	0,00485	0,999	0,00476	0,998
Sn	0,000991	0,997	0,000996	0,993
Zn	0,0391	0,998	0,0388	0,999

r = coeficiente de correlação

5.2.3.3 Limites de Quantificação e Detecção

Os limites de detecção e quantificação para os elementos, bem como os valores máximos permitidos para cada metal em sedimentos de acordo com a legislação específica, são mostrados na tabela 25.

Tabela 25. Limites de detecção e quantificação para determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS e valores máximos permitidos pela legislação brasileira

Elemento	LOD		LOQ		CONAMA 344
	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g kg}^{-1}$)	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g kg}^{-1}$)	(mg kg^{-1})
Cu	0,631	6,39	2,05	20,5	400
Mn	4,01	40,1	13,0	130	-
Ni	0,902	9,00	3,00	30,0	35,9
Sn	2,00	20,0	6,66	66,6	-
Zn	0,133	1,30	0,434	4,30	315

Os resultados apresentados na tabela permitem concluir que é possível aplicar as metodologias na determinação de metais em sedimentos com boa sensibilidade. Os valores de LOQ são menores que os valores máximos permitidos pela Resolução 344 do CONAMA. O critério de qualidade estabelecido pela legislação apresentado na tabela é o nível I, que é o “limiar abaixo do qual prevê-se baixa probabilidade de efeitos adversos à biota” (Brasil, 2004).

O resultado de LOD para Sn ($20,0 \mu\text{g kg}^{-1}$) é inferior ao encontrado por outros trabalhos da literatura ($57 \mu\text{g kg}^{-1}$) (Cal-Pietro, 2000). No estudo da literatura utilizou-se solução de Triton X 100 para manter a suspensão homogênea e o modificador químico empregado foi a mistura Pd + Mg.

5.2.3.4 Exatidão e precisão

A avaliação da exatidão das metodologias foi feita por meio de estudos comparativos com amostras de material certificado. Os resultados são apresentados na tabela 26.

Os resultados apresentados demonstram que as metodologias desenvolvidas apresentaram exatidão suficiente para determinar, com segurança, os elementos estudados em sedimentos por GF AAS, por meio da introdução da amostra na forma de suspensão. Os valores encontrados para as concentrações dos metais nos materiais de referência foram concordantes a um nível de 95% de significância com os valores certificados, o que atesta a boa exatidão das metodologias propostas. Os valores de desvio padrão relativo para as determinações foram menores que 15%, que é o valor aceitável para a faixa de concentração de 100 de $\mu\text{g kg}^{-1}$. Para concentrações menores, entre 10 e 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ o valor de DPR(%) aceitável é de 21 % (Guilhen, 2010).

Tabela 26. Estudo de exatidão e precisão com material certificado para determinação de metais em suspensões de sedimentos por GF AAS

Elemento	Média \pm desvio padrão (n = 5)			
	Encontrado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Certificado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Material Certificado	DPR (%)
Cu	34,1 \pm 0,8	34,6 \pm 0,7	NIST 1944	2,35
Mn	444 \pm 16	440 \pm 19	PACS - 2	4,32
	365 \pm 21	357 \pm 11	MESS - 2	5,75
Ni	41,5 \pm 1,2	39,5 \pm 2,3	PACS - 2	2,89
	50,5 \pm 0,9	49,3 \pm 1,8	MESS - 2	1,78
Sn	19,1 \pm 2,8	19,8 \pm 2,5	PACS - 2	14,7
Zn	98 \pm 4	106 \pm 3	NIST 2709	4,08

Os valores de DPR para Cu e Ni encontrados neste estudo, usando fluxo de ar criado por uma bomba de aquário, foram iguais a 2,35 e 2,89%, respectivamente, são inferiores a um resultado da literatura (3,13%) que faz uso de sonda ultra sônica para manter as suspensões homogêneas (Cal-Pietro, 2000). Além disso, esse trabalho da literatura emprega digestão com água régia no preparo das amostras de sedimentos, ao contrário da proposta de preparo de amostra de sedimentos desta tese que não faz emprego de pré-digestão das amostras. Em ambos os estudos, o da literatura e o apresentado nesta tese, as amostras foram passadas em peneira 65 μm .

5.3 Desenvolvimento de metodologia para determinação de metais em amostras de peixes por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

5.3.1 Solubilização das amostras

As amostras de peixes foram solubilizadas em dois diluentes: o TMAH e o Universol[®]. O TMAH foi empregado na solubilização das amostras para determinação de Mn, Pb e Zn em peixes, e o Universol[®] foi empregado na solubilização para determinação de Cd e Ni. O processo de solubilização foi descrito na seção 4.5.3. Duas massas de 200 mg da amostra foram solubilizadas a 60 °C e empregando 500 μL de Universol[®] em uma alíquota 500 μL de TMAH na outra alíquota. Após 30 minutos observa-se, na figura 18, que para o Universol[®] o processo de solubilização se completou antes do TMAH. A mistura com o Universol[®] apresentou aspecto mais límpido que o tubo contendo TMAH e peixe. Acredita-se que esse resultado tenha ocorrido porque o Universol[®] é composto por substâncias de maior caráter básico que o TMAH, o que é coerente com o fato de reagentes mais alcalinos solubilizarem mais facilmente materiais de natureza orgânica (Nóbrega, 2006). A mistura TMAH e peixe também apresentou o mesmo aspecto límpido da mistura Universol[®] e peixes, no entanto, para se obter este resultado é necessário deixar um tempo igual a 60 minutos, ou aquecer a mistura

TMAH e peixes a 85 por 30 °C minutos. Além da vantagem apresentada pelo Universol[®] em relação ao TMAH na solubilização da mesma massa de peixe sob as mesmas condições, deve se ressaltar que o uso do Universol[®] apresenta vantagens de natureza ocupacional, tendo em vista que as substâncias que compõem a mistura Universol[®] são menos tóxicas e corrosivas que o TMAH. Além disso o custo de aquisição da mistura Universol[®] é cerca de 35% menor que do TMAH.



Figura 18. Amostras de peixe solubilizadas com Universol[®] e TMAH

5.3.2 Otimização inicial das condições de operação do Espectrômetro de Absorção Atômica

A suspensão alcalina preparada com TMAH e preparada com o Universol[®] apresentaram comportamento térmico atípico no interior do tubo de grafite. Durante a etapa de pré-secagem o líquido entrou em ebulição de forma brusca em temperaturas inferiores a 90 °C, que é a temperatura normalmente empregada em GF AAS para amostras aquosas. A ebulição rápida provocou projeção da amostra para fora do tubo com prejuízos para a sensibilidade e a precisão das medidas. Para contornar esse problema, a temperatura de pré-secagem foi diminuída

gradualmente até 60 °C, condição em que não ocorreram perdas por ebulição da amostra. Concomitante à mudança de temperatura, alteraram-se o tempo de rampa da etapa de pré-secagem de 5 para 15 s, o tempo de duração da etapa de pré-secagem de 2 para 20 s e o volume de amostra diluída introduzida no tubo de grafite foi diminuído de 40 para 20 µL. Essa otimização foi suficiente para garantir evaporação gradual e adequada da amostra solubilizada no interior do tubo, garantindo precisão e sensibilidade suficientes à execução das etapas seguintes do trabalho.

O processo de otimização inicial das condições de operação do GF AAS foi feito da mesma forma e chegou-se aos mesmos resultados, tanto para a amostra solubilizada em Universol[®], quanto para a amostra solubilizada em TMAH.

A tabela 27 apresenta os parâmetros de operação do equipamento GF AAS em que foi desenvolvida a metodologia para a determinação de metais em peixes.

Tabela 27. Parâmetros operacionais do GF AAS Perkin Elmer nos estudos de determinação de metais em peixes

Elemento	λ (nm)	Fenda (nm)	Corrente (mA)
Cd	228,8	2,7	5,0
Mn	279,5	1,8	25,0
Ni	232,0	1,8	25,0
Pb	283,3	2,7	5,0
Zn	213,9	0,5	5,0

5.3.3 Triagem dos modificadores usados na otimização multivariada

O programa de forno recomendado pelo fabricante foi adaptado na etapa de otimização inicial das condições de operação do GF AAS e empregado para escolha dos dois modificadores para a otimização multivariada. Os resultados desta triagem são apresentados na tabela 28.

Os modificadores empregados no planejamento fatorial foram Rh e W para Cd, Mn e Ni; Ir e Zr para Pb Ir e Ru para Zn.

Embora os resultados para Rh e Zr na determinação de Pb tenham sido iguais na etapa de triagem de modificador, optou-se em trabalhar com o Zr porque os sinais analíticos obtidos nas medidas feitas com este modificador apresentaram aspecto mais típico da técnica de GF AAS que os sinais obtidos usando o Rh como modificador. Os sinais do Pb obtidos com o Rh como modificador permanente apresentaram dois picos distintos, o que pode indicar a presença de duas formas químicas do Pb durante a etapa de atomização (Welz, 1999).

Tabela 28. Resultados da triagem de modificadores para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

	Elemento (Solubilizante)									
	Cd		Mn		Ni		Pb		Zn	
	(Universol [®])		(TMAH)		(Universol [®])		(TMAH)		(TMAH)	
	ABS	RSD	ABS	RSD	ABS	RSD	ABS	RSD	ABS	RSD
	(n = 5)	(%)	(n = 5)	(%)	(n = 5)	(%)	(n = 5)	(%)	(n = 5)	(%)
Ru	0,649	2,94	0,339	1,92	0,108	1,97	0,025	10,35	0,488	0,96
W	1,801	2,97	0,362	1,34	0,110	3,24	0,041	4,77	0,388	4,17
Rh	1,679	2,71	0,397	2,50	0,133	4,37	0,045	3,26	0,449	0,93
Ir	1,214	0,69	0,020	8,63	0,074	8,19	0,070	2,08	0,462	3,13
Zr	0,828	5,20	0,193	2,13	0,046	3,17	0,045	3,97	0,486	2,27
Sem*	1,376	3,12	0,340	3,23	0,103	4,59	0,016	6,78	0,295	1,58

* Não uso de modificador permanente

Exemplo da eficiência da correção de background pelo emprego do modificador permanente pode ser observado nas figuras 19 e 20. As leituras foram feitas em uma amostra de peixe em TMAH preparada de acordo com o descrito na secção 4.2.3. A amostra solubilizada foi contaminada com Pb para obter-se uma concentração final de 50 µg L⁻¹. As temperaturas de pirólise e atomização empregadas nesta medida foram iguais a 400 e 2000 °C, respectivamente.

Nas duas figuras o sinal do Pb é representado pela linha cheia em azul e o sinal do fundo é representado pela linha tracejada em vermelho. O uso de modificador, Zr, é fundamental na correção adequada do sinal de fundo, além de

propiciar a formação de sinal analítico característico da técnica de GF AAS. Pelas figuras observa-se que o sinal analítico não retornava a linha de base antes de completados os 5 segundos do tempo de integração, quando não é usado o modificador. Ao se utilizar o modificador permanente há formação de sinal mais afilado e que retorna a linha de base antes de completar o tempo de integração. Além disso, observa-se que a área integrada do sinal de fundo é reduzida de cerca de 1,800 s para menos que 0,1 s. Sabe-se que com a correção do sinal de fundo por meio de lâmpada de deutério, empregada nos equipamentos de GF AAS utilizados neste estudo, é possível considerar, para efeitos práticos que, valores de sinal de fundo menores que 0,5 s, foram adequadamente corrigidos (Welz, 1999).

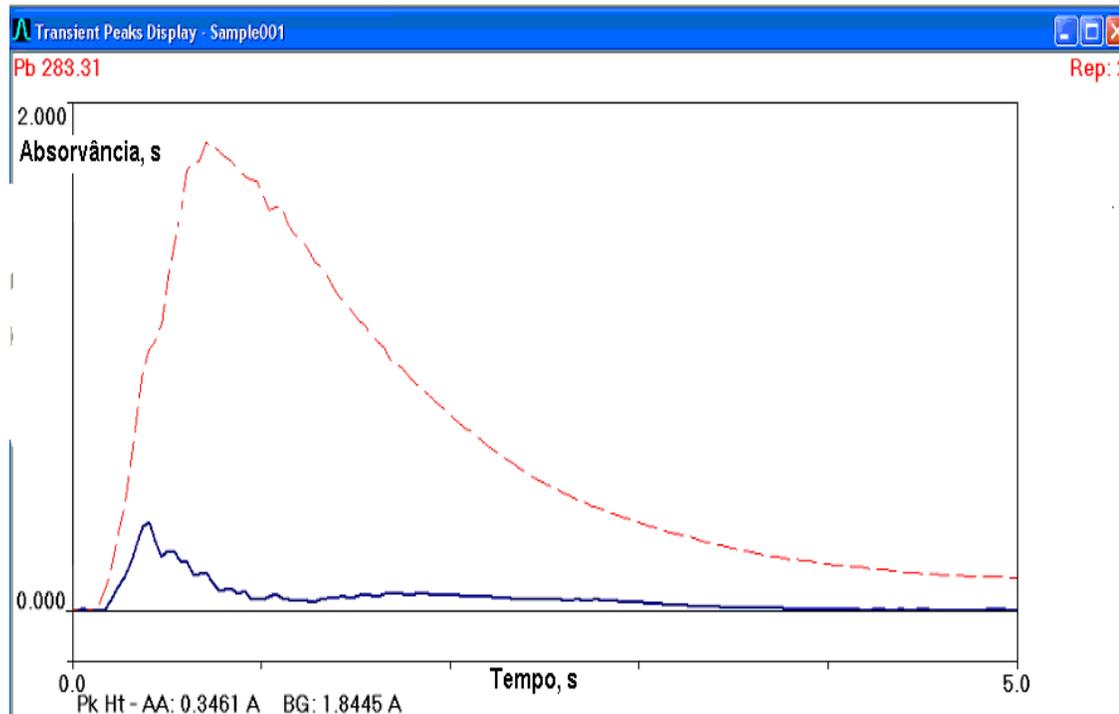


Figura 19. Sinal analítico na determinação de Pb em peixes por GF AAS sem uso de modificador

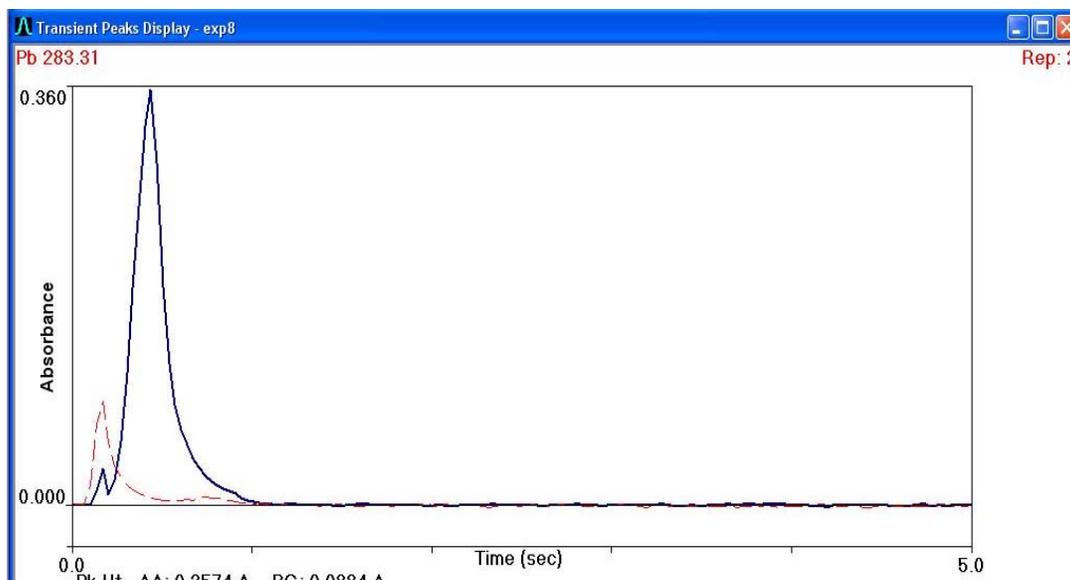


Figura 20. Sinal analítico na determinação de Pb em peixes por GF AAS usando Zr como modificador permanente

O comportamento do Pb em presença de Zr é atribuído a capacidade do modificador em catalisar de forma eficiente os processos de degradação dos concomitantes da matriz em temperaturas de pirólise baixa, assegurando a determinação do Pb praticamente isenta de interferências na etapa de atomização (Volynsky, 2004).

Todas as medidas feitas na etapa de triagem, na otimização das metodologias para cada metal e nos estudos para obtenção dos parâmetros de mérito apresentaram sinais de fundo adequadamente corrigidos pela lâmpada de deutério. Tendo em vista este aspecto os sinais analíticos apresentados em todas as tabelas das seções 5.3.4, 5.3.5, 5.3.6 e 5.3.7 já são os sinais devidamente corrigidos.

5.3.4 Otimização multivariada

O planejamento fatorial foi empregado para estabelecer os fatores significativos, as interações entre os fatores e os níveis de tendência (máximo ou mínimo) para cada variável na determinação de metais em amostras de peixe

solubilizadas em meio alcalino e em Universol[®]. Em seguida, foi construído um CCD para indicar as condições ótimas de análise. Para alguns Ni e Zn não foi possível executar o CCD e utilizou-se a otimização univariada, os motivos desta opção serão explicitados nas secções 5.3.4.3 e 5.3.4.5, respectivamente.

5.3.4.1. Otimização para determinação de cádmio em peixes

A otimização das condições de análise: temperaturas de pirólise e de atomização, tempo de pirólise e tipo de modificador foi feita empregando um planejamento fatorial 2^{4-1} . A tabela 29 apresenta os resultados deste planejamento e o gráfico de Pareto é mostrado na figura 21.

Observa-se no gráfico da figura 21 que as variáveis estudadas são significativas, onde os efeitos principais indicam tendência negativa (nível baixo) para a temperatura de atomização e tipo de modificador e tendência positiva (nível alto) para o tempo e temperatura de pirólise.

Tabela 29. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Tempo (s)	Modificador	Absorvância (s)
1	1500	300	6	Rh	0,485
2	2000	300	6	W	0,115
3	1500	600	6	W	0,367
4	2000	600	6	Rh	0,311
5	1500	300	20	W	0,385
6	2000	300	20	Rh	0,320
7	1500	600	20	Rh	0,555
8	2000	600	20	W	0,261

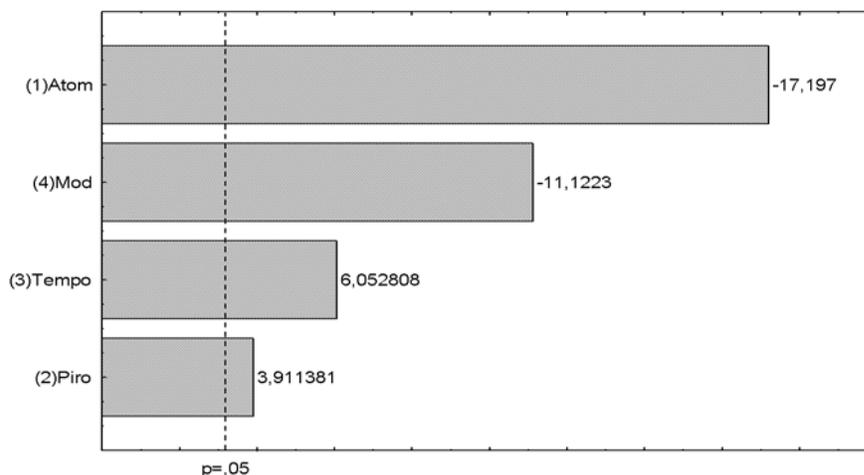


Figura 21. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

A tendência negativa para a temperatura de atomização é coerente com a característica relativamente volátil do Cd que, em estudos com GF AAS, é usualmente determinado em temperaturas de atomização inferiores a 1800 °C (Welz, 1999). Em um estudo de Tüzen e colaboradores, o Cd foi determinado em amostras de peixes em temperatura de atomização igual a 1900 °C (Tüzen, 2003).

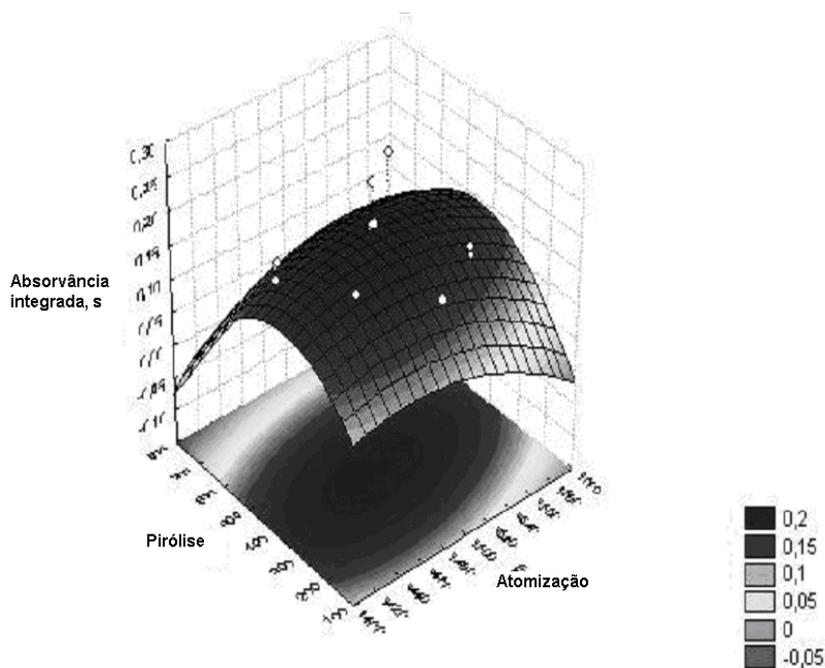


Figura 22. Superfície de resposta do CCD para otimização da determinação de Cd por GF AAS após solubilização alcalina

Utilizaram-se as tendências dos efeitos das três variáveis para construir um CCD, que indica as condições otimizadas do programa de temperatura do forno. Estas leituras foram feitas utilizando-se o Rh como modificador permanente e os resultados são apresentados na tabela 30.

Tabela 30. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Cd em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Tempo (s)	Absorvância (s)
1	1450	400	15	0,477
2	1450	400	25	0,488
3	1450	700	15	0,441
4	1450	700	25	0,379
5	1550	400	15	0,405
6	1550	400	25	0,403
7	1550	700	15	0,351
8	1550	700	25	0,350
9	1416	550	20	0,365
10	1584	550	20	0,456
11	1500	298	20	0,256
12	1500	802	20	0,433
13	1500	550	12	0,410
14	1500	550	28	0,428
15	1500	550	20	0,425
PC	1500	550	20	0,422

Os resultados dos experimentos mostrados na tabela 30 foram utilizados para construir o modelo quadrático que produziu a superfície de resposta apresentada na figura 22.

A equação que descreve a superfície de resposta é:

$$\text{ABS} = -0,89067 + 0,000495 \cdot \text{TA} - 0,000000120 \cdot \text{TA}^2 + 0,007636 \cdot \text{TP} - 0,0001858 \cdot \text{TP}^2 - 0,000000875 \cdot \text{TA} \cdot \text{TP} - 0,0000000125 \cdot 400 \cdot \text{TA} + 0,00000350 \cdot 400 \cdot \text{TP} + 0,39930$$

Onde TA e TP são as temperaturas de atomização e de pirólise, respectivamente.

A resolução da equação fornece as condições otimizadas de análise: temperaturas de pirólise e atomização iguais a 410 e 1490 °C, respectivamente, e tempo de pirólise igual a 28 segundos. Estas condições fazem parte do programa de temperatura do forno para determinação de Cd em peixes que é apresentado na tabela 37.

5.3.4.2 Otimização para determinação de manganês em peixes

A otimização das condições de análise: tipo de modificador e temperaturas de pirólise e de atomização foi feita empregando um planejamento fatorial 2^3 . A tabela 31 apresenta os resultados deste planejamento e o gráfico de Pareto é mostrado na figura 23.

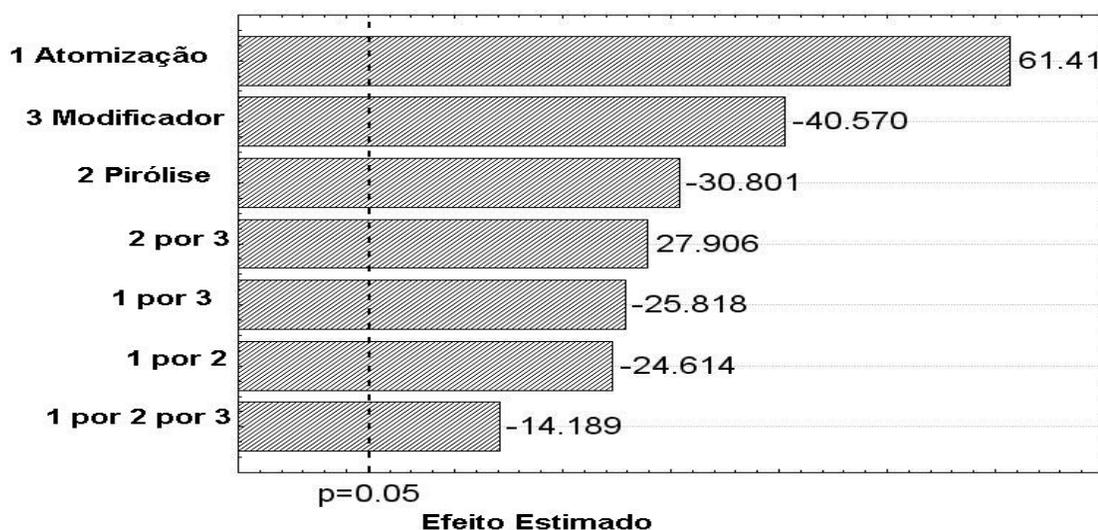


Figura 23. Gráfico de Pareto para otimização do GF AAS na determinação de Mn em peixes após solubilização alcalina

Tabela 31. Planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da metodologia para determinação de Mn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Modificador	Absorvância (s)
1	2200	1400	W	0,416
2	2600	1400	W	0,543
3	2200	1700	W	0,361
4	2600	1700	W	0,462
5	2200	1400	Rh	0,365
6	2600	1400	Rh	0,450
7	2200	1700	Rh	0,402
8	2600	1700	Rh	0,397

Observa-se no gráfico da figura 23 que as variáveis estudadas são significativas, onde os efeitos principais indicam tendência positiva (nível alto) para a temperatura de atomização e tendências negativas (nível baixo) para o tipo de modificador e a temperatura de pirólise. Isto significa que, para obter-se maior resposta, teve que se manter a temperatura de atomização na região de 2600 °C, temperatura de pirólise em 1400 °C e usar W como modificador. A interação entre tipo de modificador e temperatura de pirólise foi positiva, o que significa que combinando as tendências de seus efeitos principais (nível baixo), se obtém maior resposta. No caso das demais interações, temperatura de atomização com tipo de modificador e temperatura de atomização com temperatura de pirólise, observa-se que os valores foram negativos, indicando que a resposta diminui seguindo, simultaneamente, as tendências de seus efeitos principais. Estabelece assim um conflito entre as tendências dos efeitos principais e das interações, porém como as magnitudes dos efeitos principais são maiores que as dos efeitos das

interações, as tendências dos efeitos principais são seguidas na montagem do CCD para se obter uma maior resposta.

Na seqüência, foi montado, um CCD para estabelecer as condições ótimas de análise para as temperaturas de pirólise e atomização utilizando tungstênio como modificador permanente. A matriz do CCD com os resultados é apresentada na tabela 32, e na figura 24 é mostrada a superfície de resposta do modelo.

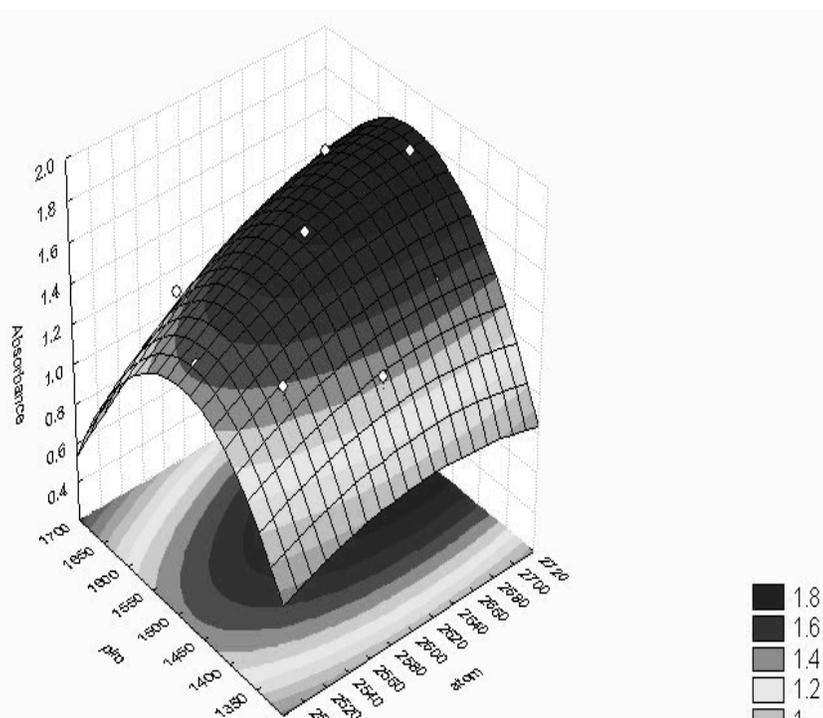


Figura 24. Superfície de resposta do CCD para otimização do GF AAS na determinação de Mn em peixes após solubilização alcalina

A equação que descreve a superfície de resposta é:

$$\text{ABS} = 78,71048 + 0,039294.TA - 0,00000929.TA^2 + 0,035648.TP - 0,0000180.TP^2 + 0,000007214.TA.TP + 0,0000002345.400.TA + 0,0000323.400.TP + 0,28754$$

Onde TA e TP são as temperaturas de atomização e de pirólise, respectivamente.

Tabela 32. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Mn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de Atomização (°C)	Temperatura de Pirólise (°C)	Absorvância (s)
1	2530	1300	0,683
2	2530	1500	0,728
3	2670	1300	0,782
4	2670	1500	0,825
5	2501	1400	0,739
6	2699	1400	0,787
7	2600	1260	0,723
8	2600	1540	0,758
PC*	2600	1400	0,755

* Valor médio da leitura de cinco replicatas

Os valores críticos derivados da equação que descreve o modelo são as condições otimizadas de análise: temperaturas de pirólise e de atomização iguais a 1600 e 2700 °C respectivamente. Estas condições fazem parte do programa de temperatura do forno para determinação de Mn em peixes, apresentado na tabela 37.

5.3.4.3 Otimização para determinação de níquel em peixes

A otimização do tipo de modificador e das temperaturas de pirólise e atomização foi feita empregando um planejamento fatorial 2³. O gráfico de Pareto é mostrado na figura 25 e os resultados deste planejamento na tabela 33 apresenta.

Pelo gráfico de Pareto observa-se que a única variável indicada como significativa na otimização foi a temperatura de atomização. A temperatura de pirólise e o tipo de modificador não foram indicados como variáveis significativas,

e suas tendências foram positivas (nível alto), sendo o modificador de melhor desempenho o Rh.

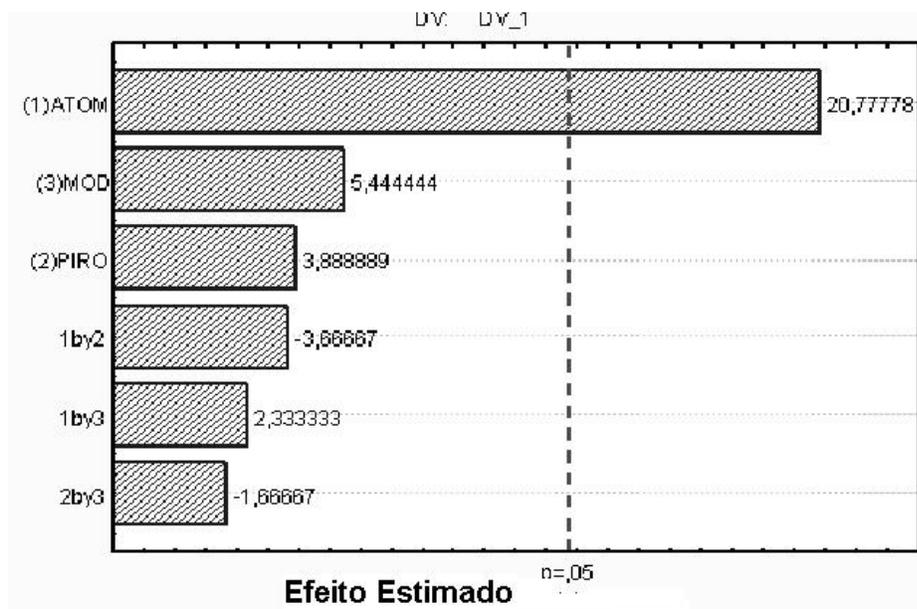


Figura 25. Gráfico de Pareto para otimização do GF AAS na determinação de Ni em peixes após solubilização alcalina

Tabela 33. Planejamento fatorial 2^3 empregado na otimização da metodologia para determinação de Ni em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Modificador	Absorvância (s)
1	2200	1100	W	0,066
2	2600	1100	W	0,119
3	2200	1700	W	0,091
4	2600	1700	W	0,123
5	2200	1100	Rh	0,083
6	2600	1100	Rh	0,136
7	2200	1700	Rh	0,092
8	2600	1700	Rh	0,133

Na impossibilidade de construir um CCD com apenas uma variável, que seria a temperatura de atomização, Um planejamento CCD é uma ferramenta de quimiometria que avalia diversas variáveis ao mesmo tempo, bem como as interações entre elas. Normalmente, um CCD é construído com as variáveis indicadas como significativas por outra ferramenta quimiométrica, normalmente planejamento fatorial. Logo para se construir um CCD é necessária mais de uma variável. Como apenas uma variável foi indicada como significativa pelo planejamento fatorial, decidiu-se continuar os estudos da otimização das condições de análise de forma univariada.

Uma curva de pirólise e atomização foi construída com experimentos realizados utilizando o Rh como modificador permanente. As curvas são apresentadas na figura 26.

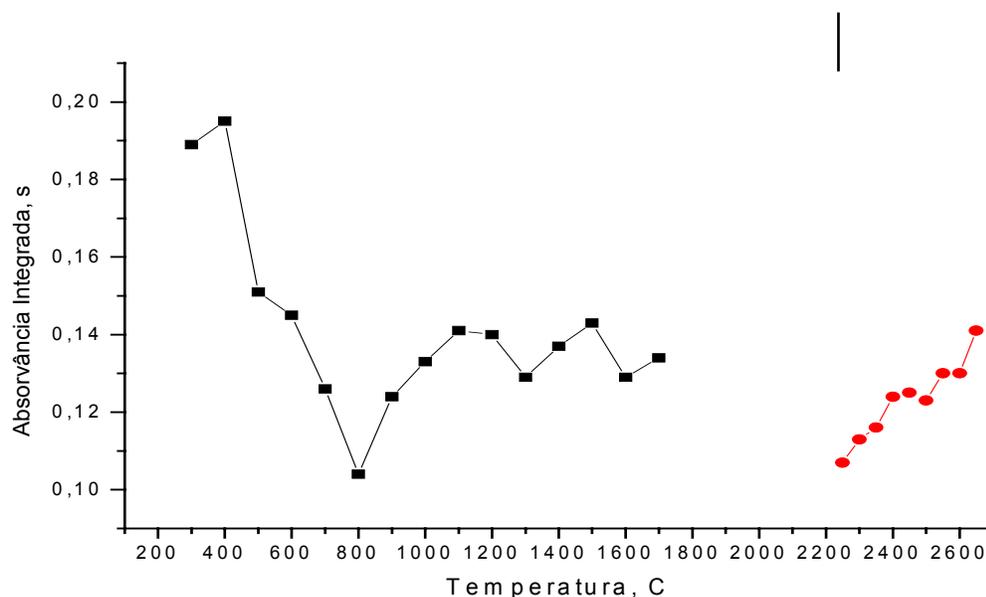


Figura 26. Curva de pirólise e atomização para determinação de Ni em peixes pro GF AAS após solubilização alcalina usando Rh como modificador permanente

As temperaturas de pirólise que apresentaram os maiores sinais em absorção foram entre 300 e 700 °C, no entanto os valores da absorção de fundo foram acima de 0,5 s, indicando que não houve correção de background nessas condições. A formação acentuada de concomitantes da matriz nesta faixa de

temperatura pode ter inviabilizado a correção do fundo. Então, considerou-se para avaliação dos resultados, apenas as leituras realizadas em temperaturas de pirólise maiores que 800 °C. As temperaturas ótimas de pirólise e atomização, observadas no gráfico da figura 26, foram, respectivamente, 1500 e 2700 °C. Os valores obtidos na otimização univariada confirmaram a tendência apontada pelo planejamento fatorial, de nível alto para as temperaturas de pirólise e atomização. O programa de temperatura de forno para determinação de níquel em peixes é apresentado na tabela 37.

5.3.4.4 Otimização para determinação de chumbo em peixes

A otimização das condições de análise, tempo de pirólise, tipo de modificador e temperaturas de pirólise e de atomização, foi feita empregando planejamento fatorial 2^{4-1} . A tabela 34 apresenta os resultados deste planejamento e o gráfico de Pareto é mostrado na figura 27.

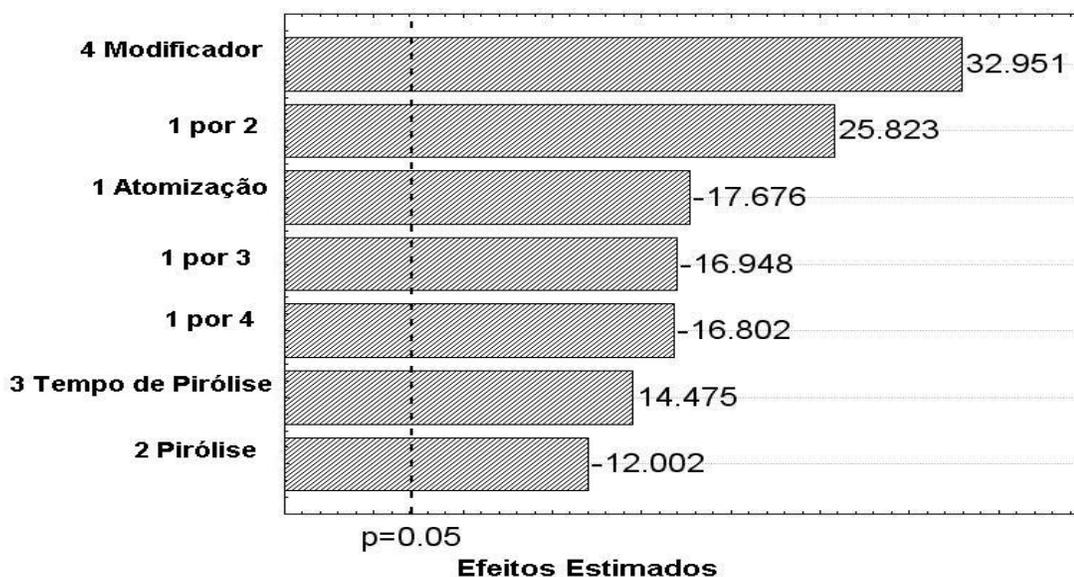


Figura 27. Gráfico de pareto para otimização do GF AAS na determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Tabela 34. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Tempo (s)	Modificador	Absorvância (s)
1	2000	400	6	Ir	0,060
2	2500	400	6	Zr	0,067
3	2000	700	6	Zr	0,073
4	2500	700	6	Ir	0,064
5	2000	400	20	Zr	0,153
6	2500	400	20	Ir	0,046
7	2000	700	20	Ir	0,052
8	2500	700	20	Zr	0,080

O gráfico de Pareto para o Pb na figura 27 mostra que as variáveis são significativas, com efeitos principais com tendências positivas (nível alto) para o tipo de modificador e o tempo da etapa de pirólise, e tendências negativas (nível baixo) para as temperaturas de pirólise e de atomização. O efeito positivo da interação entre as temperaturas de atomização e de pirólise é concordante com as tendências dos seus efeitos principais, ou seja, se obtém maiores respostas mantendo as temperaturas de atomização e pirólise, simultaneamente, em seus níveis mais baixos. As demais interações possuem tendências opostas as dos efeitos principais, mas analisando as magnitudes dos efeitos principais, se obtém uma maior resposta nas regiões de temperatura de atomização de 2000 °C, temperatura de pirólise de 400 °C, tempo de pirólise de 20 segundos e usando Zr como modificador.

O planejamento composto central foi montado com as tendências apontadas no planejamento fatorial e utilizando o Zr como modificador

permanente. A tabela 35 apresenta a matriz do CCD e a figura 28 a superfície de resposta obtida.

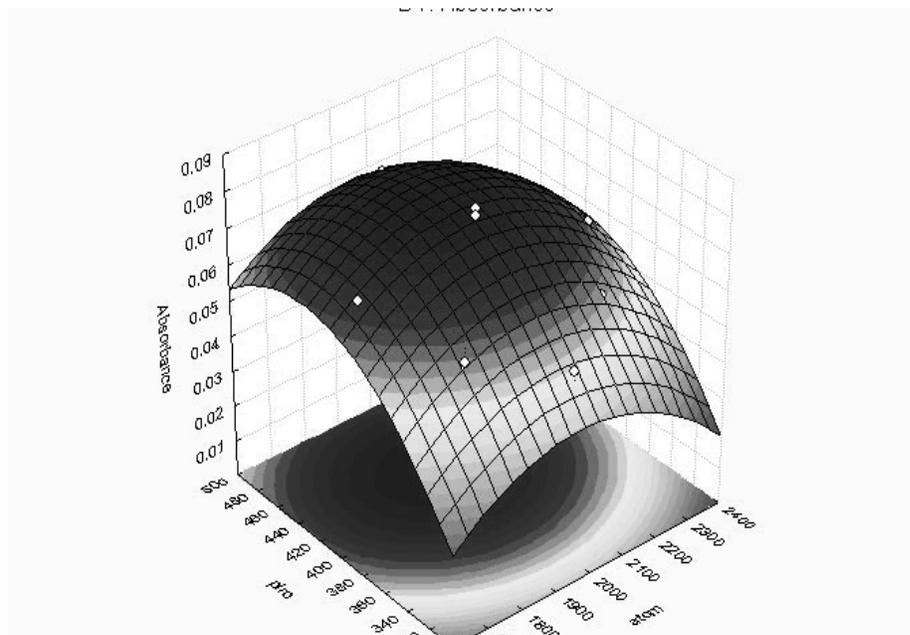


Figura 28. Superfície de resposta do CCD para otimização do GF AAS na determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

A equação que descreve a superfície de resposta é:

$$\text{ABS} = -0,89067 + 0,000495.TA - 0,000000120.TA^2 + 0,007636.TP - 0,0001858.TP^2 - 0,000000875.TA.TP - 0,0000000125.400.TA + 0,00000350.400.TP + 0,39930$$

Onde TA e TP são as temperaturas de atomização e de pirólise, respectivamente.

Os valores críticos derivados da equação que descreve o modelo são as condições otimizadas de análise: temperaturas de pirólise e de atomização iguais a 400 e 2000 °C respectivamente, e tempo da etapa de pirólise igual a 26 s. Estas condições fazem parte do programa de temperatura do forno para determinação de Pb em peixes que é apresentado na tabela 37.

Tabela 35. Matriz do CCD empregado na otimização da metodologia para determinação de Pb em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Tempo (s)	Absorvância (s)
1	1800	350	15	0,057
2	1800	450	15	0,072
3	1800	350	25	0,057
4	1800	450	25	0,070
5	2200	350	15	0,058
6	2200	450	15	0,067
7	2200	350	25	0,051
8	2200	450	25	0,067
9	1664	400	20	0,070
10	2336	400	20	0,062
11	2000	400	12	0,066
12	2000	400	28	0,064
13	2000	316	20	0,054
14	2000	484	20	0,072
PC	2000	400	20	0,078
PC	2000	400	20	0,079
PC	2000	400	20	0,079
PC	2000	400	20	0,076
PC	2000	400	20	0,077

5.3.4.5 Otimização para determinação de zinco em peixes

A otimização do tempo de pirólise, tipo de modificador e das temperaturas de pirólise e de atomização, foi feita empregando planejamento fatorial 2^3 . A tabela 36 apresenta os resultados deste planejamento e o gráfico de pareto é mostrado na figura 29.

Tabela 36. Planejamento fatorial 2^{4-1} empregado na otimização da metodologia para determinação de Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Experimento	Temperatura de atomização (°C)	Temperatura de pirólise (°C)	Tempo (s)	Modificador	Absorvância (s)
1	1800	400	6	Zr	0,501
2	2300	400	6	Ru	0,496
3	1800	700	6	Ru	0,375
4	2300	700	6	Zr	0,523
5	1800	400	20	Ru	0,596
6	2300	400	20	Zr	0,469
7	1800	700	20	Zr	0,705
8	2300	700	20	Ru	0,403

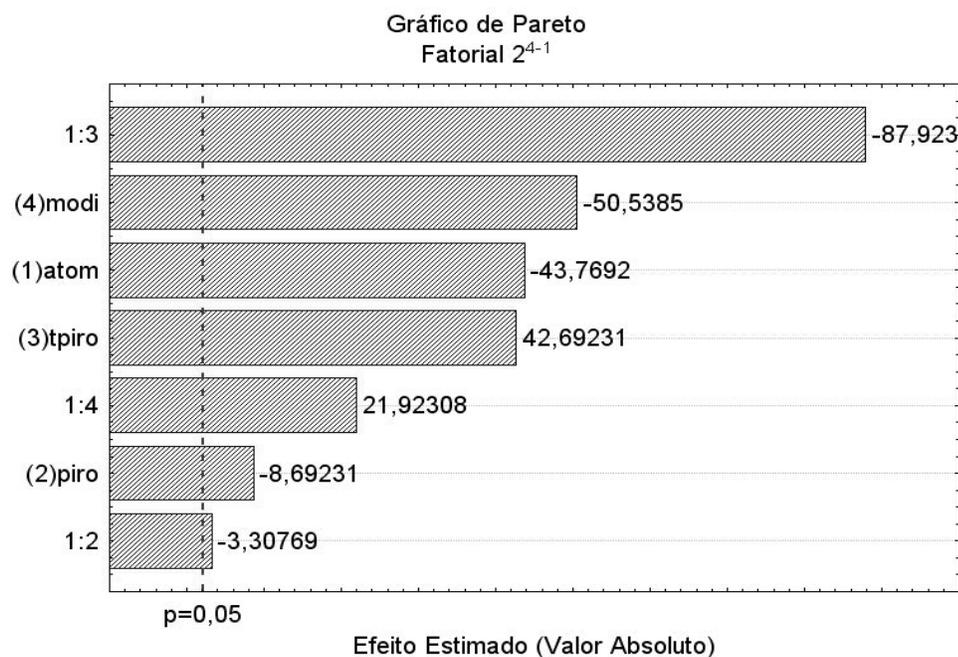


Figura 29. Gráfico de pareto com os resultados do planejamento fatorial para Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

O gráfico de Pareto mostra que as variáveis estudadas foram significativas, onde os efeitos principais indicam tendência positiva (nível alto) para o tempo da etapa de pirólise, e tendência negativa (nível baixo) para as demais variáveis. Isto significa que para obtermos as maiores respostas devemos usar o Zr como modificador, as temperaturas de atomização e de pirólise próximas a 1800 °C e 400 °C, respectivamente, e o tempo de pirólise igual a 20 segundos. A interação entre a temperatura de atomização e o tempo de duração da etapa de pirólise foi o efeito de maior magnitude apontado pelo gráfico de Pareto. A interação apresentou tendência negativa (nível baixo), sugerindo que para um tempo maior da etapa de pirólise não é possível utilizar temperaturas de atomização baixas, prejudicando os processos de atomização causando diminuição da resposta.

Com as tendências apresentadas pelas variáveis foi montado um CCD para indicar as condições ótimas de análise, no entanto as superfícies de resposta geradas se apresentaram como ponto de sela. Mesmo com alterações nos níveis das variáveis o aparecimento do ponto de sela persistiu. A impossibilidade de se continuar com o estudo multivariado para metodologia de determinação de Zn em peixes, pode ter acontecido porque os níveis mínimos ou máximos estudados no planejamento foram inadequados para determinação do metal. Por exemplo, uma temperatura alta de atomização em um dos pontos do planejamento pode provocar a volatilização do analito reduzindo drasticamente o sinal analítico. Ou uma temperatura baixa de pirólise não ser suficiente para destruição da matriz, de forma a gerar sinais analíticos atípicos para a técnica, e de reprodutibilidade inadequada, o que dificulta a avaliação dos resultados.

Assim sendo, optou-se por fazer a otimização das condições de análise de forma univariada, através de curvas de pirólise e de atomização (figura 30). No estudo univariado utilizou-se o Zr como modificador e o tempo de duração da etapa de pirólise empregado foi o nível máximo de 20 s, como indicado pelo planejamento fatorial.

As temperaturas ótimas de pirólise e de atomização foram, respectivamente, 400 e 2000 °C. Os níveis mínimo e máximo estudados no planejamento fatorial para a temperatura de atomização foram de 1800 e 2300 °C,

respectivamente. Logo, pode se concluir que, a temperatura de 2000 °C, encontrada na otimização univariada, foi concordante com a tendência apontada pela otimização multivariada. A temperatura de pirólise encontrada na otimização univariada também foi concordante com a tendência apontada pelo planejamento fatorial.

Essas temperaturas formaram o programa de temperatura de forno para a determinação de Zn em peixes e é apresentado na tabela 37.

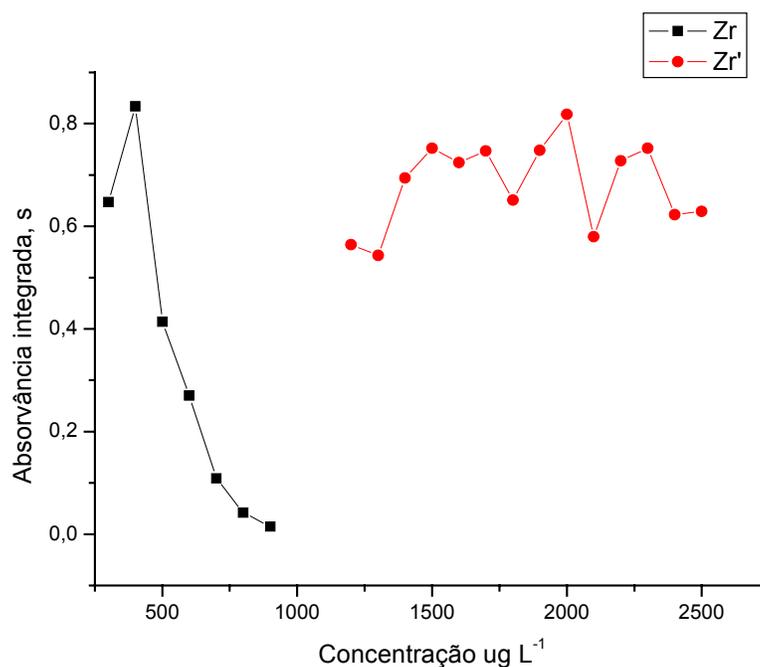


Figura 30. Curva de pirólise e atomização para determinação de Zn em peixes por GF AAS após solubilização alcalina usando Zr como modificador permanente

A tabela 37 apresenta o programa de temperatura de forno para todos os metais estudados na secção 5.3. Este programa foi empregado na obtenção das figuras de mérito das metodologias.

Tabela 37. Programa de temperatura de forno otimizado para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Fluxo de Argônio (mL min ⁻¹)
Pré-Secagem	60	15,0	20,0	250
Secagem	140	3,0	4,0	250
Pirólise	410 ^a ; 1600 ^b ; 1500 ^c ; 400 ^{d,e}	4,0	28 ^a ; 20 ^{b, c, e} ; 26 ^d	250
Atomização	1490 ^a ; 2700 ^{b, c} ; 2000 ^{d, e}	0,5	5,0	0,0
Limpeza	2800	2,0	2,0	250

a = Cd; b = Mn; c = Ni; d = Pb; e = Zn

5.3.5 Linearidade e seletividade (efeito de matriz)

A linearidade e o efeito de matriz foram estudados através de seis curvas de calibração, sendo três em água Milli Q (curva aquosa) e três em peixe solubilizado em TMAH ou Universol[®]. Foi aplicado teste F e teste t de student a um nível de 95 % de significância para avaliar se ocorreu diferença entre as inclinações das curvas nos dois meios. Os resultados são apresentados na tabela 38.

Tabela 38. Avaliação da inclinação das curvas de calibração na determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Elemento	Curva aquosa (n = 3)		Curva em peixe solubilizado (n = 3)	
	Inclinação	r	Inclinação	r
Cd	0,0999	0,997	0,0977	0,997
Mn	0,0250	0,997	0,0318	0,993
Ni	0,0688	0,999	0,0680	0,999
Pb	0,0137	0,999	0,0114	0,987
Zn	0,00471	0,991	0,00508	0,993

Observa-se na tabela 38 que os valores dos coeficientes de correlação das curvas de calibração foram maiores que 0,99, indicando linearidade satisfatória.

Não foi apresentada diferença estatística entre as inclinações das curvas de calibração nos dois meios, o que permite afirmar que o efeito de matriz não interfere na determinação dos metais. Exceção feita às estratégias de calibração na determinação de Mn, que apresentaram diferença significativa, o que leva a concluir que ocorreu efeito de matriz na determinação deste analito, o que impede o uso de calibração aquosa na determinação de Mn em peixes empregando a metodologia proposta. Para este metal deve se usar a calibração por adição de analito.

5.3.6 Limites de Detecção e Quantificação

Os valores dos limites de detecção e quantificação para a determinação de metais em peixes por GF AAS são apresentados na tabela 39.

Tabela 39. Limites de detecção e quantificação para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina e valores máximos permitidos pela legislação brasileira

Elemento	LOD		LOQ		ANVISA 685 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g kg}^{-1}$) *	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g kg}^{-1}$)*	
Cd	0,316	15,8	1,05	52,7	1000
Mn	0,900	45,0	3,00	150	-
Ni	1,36	68,0	4,54	227	5000
Pb	0,111	5,55	0,370	18,5	2000
Zn	2,56	128	8,53	427	50000

* Em relação à massa utilizada no preparo da suspensão alcalina

Os valores de LOQ apresentados na tabela 39 permitem afirmar que, é possível determinar os metais estudados em peixes atendendo às exigências da

legislação. Os valores de LOQ para Ni e Cd, por exemplo, foram cerca de vinte vezes menor que o limite máximo permitido pela Portaria 685 da Anvisa.

5.3.7 Exatidão e precisão

O estudo de exatidão para as metodologias é apresentado na tabela 40. O estudo foi feito com material de referência certificado.

Tabela 40. Estudo de exatidão e precisão com material certificado para determinação de metais em peixes por GF AAS após solubilização alcalina

Elemento	NRCC TORT-2 valor encontrado (mg kg ⁻¹)	NRCC TORT-2 valor certificado (mg kg ⁻¹)	RSD (%) n = 5
Cd	21,5 ± 0,8	26,7 ± 0,6	3,70
Mn	11,2 ± 1,0	13,6 ± 1,6	8,93
Ni	2,78 ± 0,21	2,50 ± 0,19	7,55
Pb	0,40 ± 0,05	0,35 ± 0,13	12,5
Zn	182 ± 11	180 ± 6	6,04

As concentrações encontradas são concordantes com os valores do material certificado a um nível de 95% de significância. Os valores de DPR% foram menores que 11%, que é o valor de referência para medidas de concentrações da ordem de 1 mg L⁻¹, menores que 15% para as medidas de concentrações de 100 µg L⁻¹ e menores que 21% para as concentrações de 10 µg L⁻¹ (Guilhen, 2010).

6. Conclusão

Com os resultados obtidos podemos concluir que:

- A otimização da condição robusta de operação do ICP OES foi suficiente para garantir a determinação simultânea de 20 elementos em dois tipos de água diferentes, de manancial e tratada.

- Os valores dos limites de quantificação da metodologia para determinação de metais em águas por ICP OES são menores que os valores máximos estabelecidos pela legislação do Brasil, o que permite empregar a metodologia para o monitoramento da presença dos 20 metais em água tratada e de manancial sem necessidade de procedimentos de pré-concentração.

- Os demais parâmetros de mérito (linearidade, exatidão e precisão) para a metodologia desenvolvida para ICP OES foram concordantes com as exigências especificadas para considerar a metodologia validada.

- Não ocorreu efeito de matriz para todos dos elementos, com exceção do ferro em água de manancial, determinados por ICP OES. Isto torna possível a utilização de calibração com água Milli Q e não faz necessário o uso de calibração por adição de padrão. Esta conclusão é especialmente importante, tendo em vista que a metodologia será empregada pela COPASA no controle de qualidade da água tratada e distribuída à população das cidades onde a empresa atua. O número de amostras analisadas pela empresa é da ordem de centenas por mês, o que torna a calibração em água Milli Q, particularmente atrativa para a aplicação da metodologia desenvolvida na tese.

- A metodologia de preparo de amostra de sedimentos por suspensão para GF AAS é uma alternativa ao preparo com digestão ácida.

- O fluxo de ar criado pela bomba de aquário foi suficiente para manter a suspensão de sedimentos homogênea. Os valores de DPR% encontrados corroboram esta afirmação. Os valores foram sempre menores que 15%, que é o valor aceitável para a faixa de concentração dos metais presentes nos sedimentos estudados. Os valores de DPR% obtidos neste trabalho são compatíveis com registros da literatura que fazem uso de estratégias mais caras de manutenção da homogeneidade das suspensões, como uso de sondas ultra-sônicas, por exemplo. A bomba de aquário comercial empregado tem custo entre R\$ 40,00 e R\$ 50,00. As sondas ultra-sônicas comerciais têm custo da ordem de milhares de dólares americanos. Além disso, o preparo das amostras proposto no trabalho desta tese, consistiu em pesagem do sedimento no copo do amostrador automático do equipamento GF AAS, seguida da adição da mistura diluente, não houve nenhum tipo de procedimento de pré-digestão.

- Os valores dos limites de quantificação das metodologias desenvolvidas para determinação de metais em peixes e sedimentos por GF AAS foram suficientes para atender às exigências da legislação do Brasil, assim como os demais parâmetros de mérito como, linearidade, exatidão e precisão foram concordantes com as exigências especificadas para considerar as metodologias validadas.

- O uso da modificação permanente foi suficiente em garantir a determinação dos metais em suspensão de sedimentos com correção adequada dos interferentes de matriz.

- A solubilização alcalina com TMAH e Universol[®] foram estratégias adequadas para determinação de metais em peixes por GF AAS, tendo os parâmetros de mérito como linearidade, exatidão e precisão foram concordantes com as exigências especificadas para considerar a metodologia validada.

- As amostras de peixe foram solubilizadas com Universol[®] em condições de temperatura branda e em tempo relativamente baixo que as estratégias empregando solubilização em meio ácido a quente.

- O reagente Universol[®] apresentou-se como uma estratégia adequada para solubilização de amostras de peixes para determinação de Cd e Ni por GF AAS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, F. R.; BOF, C.; FRANCO, M. B.; SILVA, J. B. B.; NASCENTES, C. C. *Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry* **Microchem. J.**, 82, 168, 2006.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** American Public Health Association, 20th ed., 1999.

ARAÚJO, B. F.; ALMEIDA, M. G.; SALOMÃO, M. S. M. B; GOBO, R. R.; SIQUEIRA, V. C.; OVALLE, Á. R. C.; REZENDE, C. E. *Distribuição de Hg total e suas associações com diferentes suportes geoquímicos em sedimentos marinhos da margem continental brasileira: Bacia de Campos – Rio de Janeiro.* **Quim. Nova**, 33, 501, 2010.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: Gerenciamento e Toxicidade.** São Paulo: Ateneu, 2003.

BAIRD, C. **Química Ambiental.** Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos.** Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; NUNES, J. A.; TORMEN, L.; CURTIUS. A. J.; BARBOSA JUNIOR, F. *Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS.* **Talanta**, 76, 575, 2008.

BELO, A.; QUINÁIA, S. P.; PLETSCH, A. L. *Avaliação da contaminação de metais em sedimentos superficiais das praias do Lago de Itaipu*. **Quim. Nova**, 33, 613, 2010.

BIRUNGI, Z.; MASOLA, B.; ZARANYIKA, M.F.; NAIGAGA, I.; MARSHALL, B. *Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (Oreochromis niloticus) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria*. **Phys. Chem. Earth**, 32, 1350, 2007.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Portaria nº685 de 27 de agosto de 1998. Publicado no D.O.U. de 28-08-1998.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº344 de 25 de março de 2004. Publicada no D.O.U. de 07-05-2004.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº357 de 17 de março de 2005. Publicado no D.O.U. de 18-03-1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Publicada no D.O.U. de 26-03-2004.

BRENNER, I.B.; ZANDER, A.T. *Axially and radially viewed inductively coupled plasmas—a critical review*. **Spectrochim. Acta Part B**, 55, 1195, 2000.

BROWNER, R. F.; CANALS, A. ; HERNANDIS, V. *Effect of analyte and solvent transport on signal intensities in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*. **Spectrochim. Acta Part B**, 47, 659, 1992.

CAL-PIETRO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; LÓPEZ-MAHYA, P.; MUNIATEGUI, S.; PRADA, D. *Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ET AAS). A literature review from 1990 to 2000*. **Talanta**, 56, 1, 2002.

CAMPOS, R. C.; CURTIUS, A. J. 1º Curso de Atualização em análise de elementos traços: Espectrofotometria de Absorção Atômica, Forno de Grafite, Técnica de Geração de Vapor. Campo Grande: Embrapa/CNPq, 1991.

CASTRO-GONZALEZ, M.I.; MENDEZ-ARMENTA, M. *Heavy metals: Implications associated to fish consumption*. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 26, 263, 2008.

ESCUADERO, L. A.; MARTINEZ, L. D.; SALONIA, J. A.; GASQUEZ, J. A. *Determination of Zn(II) in natural waters by ICP-OES with on-line preconcentration using a simple solid phase extraction system*. **Microchem. J.**, 95, 164, 2010.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1988.

FARAJI, M.; YAMINI, Y.; SALEH, A.; REZAEI, M.; GHAMBARIAN, M.; HASSANI, R. *A nanoparticle-based solid-phase extraction procedure followed by flow injection inductively coupled plasma-optical emission spectrometry to determine some heavy metal ions in water samples*. **Anal. Chim. Acta**, 659, 172, 2010.

FERNANDES, K. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A. *Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry*. **Talanta**, 71, 1118, 2007.

FRIESE, K.; SCHMIDT, G.; LENA, J. C.; NALINI JUNIOR, H. A.; ZACHMANN, D. W. *Anthropogenic influence on the degradation of an urban lake— The Pampulha reservoir in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil*. **Limnologica**, 40, 114, 2010.

FROES, R. E. Emprego da otimização multivariada no desenvolvimento de métodos para a determinação de metais em chá verde, refrigerante, cachaça, “ice drinks” e suco de frutas por espectrometria de emissão óptica com fonte plasma indutivamente acoplado. Belo Horizonte, MG. 2009, Tese de Doutorado, UFMG.

GHISI, M.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; CURTIUS, A. J. *Avaliação de diferentes formas de introdução de amostra biológica tratada com Hidróxido de Tetrametilamônio em Espectrometria de Absorção Atômica com Chama*. **Revista Analytica**, 28, Abril/Maio, 2007.

GINÉ, M. F. **Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente**. Piracicaba: CENA/USP – 1998.

GUILHEN, S. N.; PIRES, M. P. F.; KEIKO, E. S.; XAVIER, D. F. B. *Validação de metodologia analítica para determinação de mercúrio total em amostras de urina por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV AAS). Estudo de Caso*. **Quim. Nova**, 33,1285, 2010.

HIBBERT, D. *Method validation of modern analytical techniques* **Accred Qual Assur**, 4, 352, 1999.

ICH – Q 2B. *Validation of analytical procedures: methodology*. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Nov, 1996. Geneva, Switzerland

INMETRO DOQ-CGCRE-008- março de 2003 – Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, Revisão 01, 35 p.2003.

KAMALA-KANNAN, S.; BATVARI, B. P. D.; LEE, K. J.; KANNAN, N.; KRISHNAMOORTHY, R.; SHANTHI, K.; JAYAPRAKASH, M. *Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (Ulva lactuca) in the Pulicat Lake, South East India*. **Chemosphere**, 71, 1233, 2008.

LAVILLA, I.; VILAS, P.; BENDICHO, C. *Fast determination of arsenic, selenium, nickel and vanadium in fish and shellfish by electrothermal atomic absorption spectrometry following ultrasound-assisted extraction.* **Food Chem.**, 106, 403, 2008.

LIMA, E. C.; BARBOSA JUNIOR, F.; KRUG, F. J.; VIEIRA, M. B. *ETAAS Determination of Copper in Sediments Using W-Rh Permanent Modifier.* **Atom. Spectroc.**, 22, 414, 2001.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, P.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FRACETO, L. F.; DIAS FILHO, N. L.; ROSA, A. H. *Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GFAASc.*

NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. *Sample preparation in alkaline media.* **Spectroc. Acta Part B**, 61, 465, 2006.

PEREIRA, L A. Desenvolvimento de metodologias para determinação de cádmio, cromo, chumbo e manganês em água e sedimentos por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, Belo Horizonte, MG, Dissertação de mestrado, 2004.

REVISTA RURAL, Disponível em
<http://www.revistarural.com.br/edicoes/2006/artigos/rev102_tilapia.htm>.
Acessado em 23-08- 2010.

PEREIRA, L. A.; AMORIM, I.; SILVA, J. B. B. *Determination of cadmium, chromium and lead in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers.* **Talanta**, 68, 771, 2006.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. *Planilha de validação: uma nova ferramenta para estampar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados*. **Quim. Nova**, 31, 164, 2008.

SABINO, C. V. S.; KASTNER, G. F.; AMARAL, A. M.; LEITE, S. C. A. L.; CARVALHO, R. P.; SILVA, I. R. *Estudo da biodisponibilidade de metais nos sedimentos da Lagoa da Pampulha*. **Quím. Nova**, 27, 231, 2004.

SANTOS, D. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; NEVES, E. F. A.; CAVALHEIRO, E. D. G.; NOBREGA, J. A. *Análise química inorgânica de leite e simulação do reagente CFA-C*. **Eclét. Quím.** 27 n°.especial, 2002.

SANTOS, M. C.; NÓBREGA, J. A.; BACCAN, N.; CADORE, S. *Determination of toxic elements in plastics from waste electrical and electronic equipment by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry*. **Talanta**, 81, 1781, 2010.

SARAIVA, V. K.; NASCIMENTO, M. R. L.; PALMIERI, H. E. L.; JACOMINO, V. M. F. *Avaliação da qualidade de sedimentos – estudo de caso: sub-bacia do Ribeirão Espírito Santo, afluente do Rio São Francisco*. **Quim. Nova**, 32, 1995, 2009.

SARDANS, J.; MONTES, F.; PEÑUELAS, J. *Determination of As, Cd, Cu, Hg and Pb in biological samples by modern electrothermal atomic absorption spectrometry*. **Spectroc. Acta Part B**, 65, 97, 2010.

SCHIAVO, D.; TREVIZAN, L.C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; NÓBREGA, J. A. *Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing*. **Spectroc. Acta Part B**, 64, 544, 2009.

SENKAL, B. F.; INCE, M.; YAVUZ, E.; YAMAN, M. *The synthesis of new polymeric sorbent and its application in preconcentration of cadmium and lead in water samples*. **Talanta**, 72, 962, 2007.

SHUTAR , S.; NEMA, A. K.; CHABUKDHARA, M.; GUPTA, S. K. *Assessment of metals in water and sediments of Hindon River, India: Impact of industrial and urban discharges*. **J. Hazard. Mater.**, 171, 1088, 2009.

SILVA, J.B.B.; SILVA, M.A.M.; CURTIUS, A.J.; WELZ, B. *Determination of Ag, Pb and Sn in aqua regia extracts from sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier*. **J. Anal. At. Spectrom.**, 14, 1737, 1999.

SILVA, J. B. B. *Comportamento da atomização eletrotérmica de ouro, prata, bismuto, cádmio, chumbo e estanho em soluções aquosas e em etanol a partir de diferentes superfícies atomizadoras*. **Quím. Nova**, 27, 1, 2004.

SILVA, E. L.; ROLDAN, P. S.; GINÉ, M. F. *Simultaneous preconcentration of copper, zinc, cadmium, and nickel in water samples by cloud point extraction using 4-(2-pyridylazo)-resorcinol and their determination by inductively coupled plasma optic emission spectrometry*. **J. Hazard. Mater.**, 171, 1133, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

STATSOFT, **Statistica for Windows, Computer Program Manual**, Tulsa, 1999.

STUMM, W. **Chemical Process in Lakes**. New York: John Willey, 1985.

TORRES, D. P.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. *Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment* **Microchem. J.**, 93, 206, 2009

TSALEV, D. L.; SLAVEYKOVA, V. I., LAMPUGNANI, L., D'ULIVO, A.; GEORGIEVA, R. *Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry — advances, anticipations and reality.* **Spectrochim. Acta Part B**, 55, 473, 2000.

TÜZEN, M. *Determination of heavy metals in fish samples of the middle black sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry.* **Food Chem.**, 80, 119, 2003.

VARIAN, INC. **Vista ICP-AES Spectrometer Operation manual**, Victoria, 1999.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C. B. **Modern Methods for trace element determination.** New York: Willey ,1994.

VICENTE-MARTORELL, J. J.; GALINDO-RIAÑO, M. D.; GARCÍA-VARGAS, M.; GRANADO-CASTRO, M. D. *Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediments and fish species from a polluted estuary.* **J. Hazard. Mater.**, 162, 823, 2009.

VOLYNSKY, A. B. *Mechanisms of action of platinum group modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry.* **Spectrochim. Acta Part B**, 55, 103, 2000.

VOLYNSKY, A. B. *Comparative efficacy of platinum group metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry.* **Spectrochimica Acta Part B**, 59, 1799, 2004.

ZHANG, M.; CUI, L.; SHENG, L.; WANG, Y. *Distribution and enrichment of heavy metals among sediments, water body and plants in Hengshuihu Wetland of Northern China*. **Ecological Engineering**., 3 5, 563, 2 0 0 9.

WELZ, B., SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3^a ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

WINCADER, R. Reed. **Fundamentos de Geologia**. São Paulo: Cengage Learning, 1^a ed., 2009.