

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE As, Sb e Se EM MATERIAL AGRONÔMICO  
POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA ACOPLADA A  
PLASMA INDUZIDO COM GERAÇÃO DE HIDRETOS  
(HG-ICP-OES)**

CARLA CRIPA CRISPINO

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
MESTRE EM QUÍMICA (Área de  
Concentração: Química Analítica)

**Orientadora:** Dr.<sup>a</sup> Ana Rita de Araujo Nogueira

\*Bolsista Capes

SÃO CARLOS – SP

2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C932da

Crispino, Carla Cripa.

Determinação de As, Sb e Se em material agrônômico por espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido com geração de hidretos (HG-ICP-OES) / Carla Cripa Crispino. -- São Carlos : UFSCar, 2005.  
95 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Química analítica. 2. Geração de hidretos. 3. Arsênio. 4. Selênio. 5. ICP-OES. I. Título.

CDD: 543 (20<sup>a</sup>)

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, ao meu Amor **Marcos**, meus pais **Domingos** e **Aparecida**, meu irmão **Luís Henrique** e sua esposa **Celinha** e a paixão da minha vida, minha “pichulinha” **Luísa**, por todo amor e apoio dedicados em todos os momentos de minha vida.

À Prof. Dr.<sup>a</sup> **Ana Rita de Araujo Nogueira** pela orientação, apoio, incentivo e liberdade durante o desenvolvimento deste trabalho, por sempre estar presente nas conversas do dia a dia, fazendo com que este trabalho fosse uma jornada de muito aprendizado.

Muito Obrigada!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus

Aos membros da Comissão examinadora: Solange Cadore e Luiz Fabrício Zara pelas sugestões e discussões.

Ao Professor Joaquim de Araújo Nóbrega pelas valiosas sugestões nos seminários apresentados e pela colaboração, e amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos Edivan, Marcos e Sherlan pela ajuda em diversas ocasiões deste trabalho.

Aos amigos da Embrapa Lourdes, Marcos, Cristina, Natal e a todos os estagiários, pelas animadas conversas sobre os mais diversos assuntos e por toda ajuda proporcionada.

Aos amigos do Gaia, Andréa, Ariel, Barrinha, Carla, Caio, Cláudia, Clésia, Dani, Daniel, Dani Minholo, Edilene, Edilson, Edivan, Elma, Eveline, Fabiana, Fernanda, Fernando, Flávia, George, Geórgia, Gilberto, João, Kelly, Letícia, Lilian, Marquinhos, Mário, Mirian, Poliana, Sherlan, Silvia, Telma e Wladiana pelos momentos de convivência e alegria.

Aos amigos de sempre Soninha, Nelsinho, Oldair, Luci, Humberto, Rogério, Malu, Zé Fernando, Murilo, Matsu, Roberta, Lucelina, Ronaldo, Leandro e Márcio.

Aos meus sogros Ortência e Ildefonso, as minhas “cunhadinhas” e amigas Márcia e Mirian e a minha “filhinha” Luna, pelos momentos de descontração e carinho.

A Dr.<sup>a</sup> Mariangela Hungria pelo grande incentivo.

Às secretárias da Pós-Graduação, Ariane, Cristina e Luciana.

À Embrapa pela disponibilidade de equipamentos e infra-estrutura para a execução de toda a parte experimental.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade da realização deste trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado e que não foram lembrados.

*MUITO OBRIGADA!!*

***“Se não houver frutos,  
Valeu a beleza das flores  
Se não houver flores,  
Valeu a sombra das folhas  
Se não houver folhas,  
Valeu a intenção da semente”.***

Henfil

## Lista de Abreviações

---

<b>AsB</b>	“Arsenobetaine” (arsenobetaína);
<b>CF</b>	“Continuous Flow” (fluxo contínuo);
<b>CF-HG-ICP OES</b>	“Continuous Flow Hydride Generation Inductively coupled Plasma Optical Emission Spectrometry” (geração de hidretos por fluxo contínuo acoplado a espectrometria de emissão ótica com plasma induzido);
<b>GF AAS</b>	“Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry” (espectrometria de absorção atômica com forno de grafite)
<b>HG</b>	“Hydride Generation” (geração de hidreto);
<b>ICP OES</b>	“Inductively coupled Plasma Optical Emission Spectrometry” (espectrometria de emissão ótica com plasma induzido);
<b>RSD</b>	“relative standard derivation” (desvio padrão relativo);

## Lista de Tabelas

---

Tabela 1. Parâmetros inicialmente fixados para avaliação do primeiro projeto para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por CF-HG-ICP OES.....	34
Tabela 2. Combinações utilizadas para a otimização do tempo de aquecimento em banho-maria com temperatura entre 80 - 85°C e desgaseificação para o sistema CF-HG-ICP OES utilizando amostra de marisco.....	38
Tabela 3. Combinações utilizadas para a otimização do comprimento das bobinas de reação do sistema CF-HG-ICP OES utilizando amostra de marisco. ....	39
Tabela 4. Variáveis avaliadas para as condições químicas utilizando um planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> .....	40
Tabela 5. Planejamento fatorial tipo estrela para as variáveis BH <sub>4</sub> <sup>-</sup> e KI.....	40
Tabela 6. Variáveis avaliadas para as condições instrumentais utilizando um planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> .....	41
Tabela 7. Programa de aquecimento usado no forno microondas Multiwave Anton Paar com frascos fechados (PTFE modificado) para amostras de ração, silagem de milho, forrageira, sangue, carcaça, carne, vísceras, sêmen e sal mineral. ....	43
Tabela 8. Programa de aquecimento usado no forno microondas Multiwave Anton Paar com frascos fechados de quartzo para amostra de marisco. ....	44
Tabela 9. Condições otimizadas para a determinação simultânea de hidretos de Se, As e Sb por CF-HG-ICP OES para a configuração A testada.....	53
Tabela 10. Condições adaptadas do sistema CF-HG para a determinação de As, Sb e Se.....	55
Tabela 11. Condições químicas para a geração hidretos de As, Sb e Se.....	58
Tabela 12. Condições instrumentais otimizadas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.....	61
Tabela 13. Porcentagem de recuperação de As em amostra de marisco utilizando GFAAS. ....	70
Tabela 14. Limites de detecção e quantificação para As, Sb e Se.....	72
Tabela 15. Porcentagem de recuperação (n=4) em amostras agrônomicas enriquecidas com 30 µg L <sup>-1</sup> de As, Sb e Se. ....	74
Tabela 16. Concentração de As, Sb e Se em amostras enriquecidas . ....	75

## Lista de Figuras

---

Figura 1. Esquema básico do sistema de geração de hidreto.....	6
Figura 2. Esquema da MWL (microwave lamp).....	30
Figura 3. Separador gás-líquido desenvolvido e confeccionado em vidro. ....	31
Figura 4. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Se e Sb por ICP OES. Configuração A .....	33
Figura 5. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES, com água entrando por confluência antes do injetor-comutador. Configuração B.....	35
Figura 6. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES, empregando agente pré-redutor para As e Sb depois da adição de NaBH <sub>4</sub> . Configuração C.....	36
Figura 7. Sistema CF-HG-ICPOES para determinação de As, Sb e Se. Config.D....	37
Figura 8. Esquema do preparo de amostras.....	45
Figura 9. Valores de intensidade referentes à configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de 100 µg L <sup>-1</sup> As, Sb e Se por ICP OES com parâmetros fixos (apresentados na Tabela 1).....	49
Figura 10. Valores de intensidade referentes ao aumento da vazão da amostra para 4,0 mL min <sup>-1</sup> para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de 100 µg L <sup>-1</sup> de As, Sb e Se por ICP OES com parâmetros fixos (apresentados na Tabela 1). ....	50
Figura 11. Valores de intensidade referentes ao aumento da vazão de limpeza para 2,4 mL min <sup>-1</sup> para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de 100 µg L <sup>-1</sup> de As, Sb e Se por ICP OES.....	51
Figura 12. Valores de intensidade referentes à diminuição da vazão dos reagentes para 2,0 mL min <sup>-1</sup> para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de 100 µg L <sup>-1</sup> de As, Sb e Se por ICP OES.....	52
Figura 13. Resultados obtidos com o uso de agente pré-redutor para configuração B do sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES. ....	54
Figura 14. Gráficos de Pareto das condições químicas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.....	57

Figura 15. Superfície de resposta do planejamento fatorial do tipo estrela das condições químicas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se. ....	58
Figura 16. Gráficos de Pareto das condições instrumentais para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se. ....	59
Figura 17. Superfície de resposta do planejamento fatorial $2^3$ para as condições instrumentais para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se. ....	61
Figura 18. Programa de aquecimento desenvolvido para Se para o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS).....	62
Figura 19. Resultados de Se obtidos com o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite e com o sistema CF-HG-ICP OES. ....	64
Figura 20. Programa de aquecimento desenvolvido para As para o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS).....	65
Figura 21. Resultados de As obtidos com GFAAS e com o sistema proposto. ....	66
Figura 22. Tempo de aquecimento em banho-maria com temperatura entre 80 - 85°C e degaseificação da amostra.....	68
Figura 23. Otimização do comprimento das bobinas de reação.....	69
Figura 24. Efeito de concomitantes sobre a determinação de As, Sb e Se.....	71
Figura 25. Curvas analíticas características de As, Sb e Se obtidas com o sistema proposto (Figura 7, pág.37).....	73
Figura 26. Diagrama de Hommel para resíduos de decomposição ácida. ....	76

## Resumo

---

DETERMINAÇÃO DE As, Sb e Se EM MATERIAL AGRONÔMICO POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA ACOPLADA A PLASMA INDUZIDO COM GERAÇÃO DE HIDRETOS (HG-ICP-OES). Com o objetivo de atingir a maior produtividade com menores custos, parâmetros químicos, orgânicos e inorgânicos, são usados cada vez mais para avaliar e monitorar o desenvolvimento de uma cultura ou espécie. A determinação de constituintes inorgânicos em amostras agronômicas possui grande importância na avaliação da produção. Alguns elementos presentes nessas amostras são indicativos da qualidade devido à essencialidade (Se) ou toxicidade (As, Sb), porém estão presentes na ordem de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , necessitando de uma técnica com alta sensibilidade para quantificação. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um sistema simples de geração de hidretos por fluxo contínuo acoplado a um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido para a determinação simultânea de As, Sb e Se em amostras agronômicas. Esse trabalho envolveu o desenvolvimento de uma câmara de separação gás-líquido e um planejamento experimental para a definição das melhores condições químicas e instrumentais da geração de hidretos. Foram estudadas a concentração de HCl, NaBH<sub>4</sub> e KI; a potência de radiofrequência do plasma, o fluxo do gás carregador e a altura de observação do plasma, além do estudo do preparo de amostra mais adequado. Usando as condições otimizadas, foram obtidos limites de detecção de 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  para As, Sb e Se e limites de quantificação de 0,3; 0,2 e 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente para As, Sb e Se com RSD menores que 10% e velocidade de leitura de 30 amostras por hora. Para observar a exatidão do procedimento proposto quatro amostras diferentes - forrageira e amostras bovinas (sangue, víscera e sêmen) - foram dopadas com os analitos na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Recuperações entre 77 e 112% foram encontradas. Espera-se com essa proposta a complementação dos estudos que determinam analitos essenciais e tóxicos em amostras de tecido, fluídos e na alimentação bovina, contribuindo para a avaliação das exigências nutricionais e o aumento da eficiência dos sistemas de produção de bovinos.

## Abstract

---

DETERMINATION OF As, Sb and Se IN AGRONOMIC SAMPLES BY HYDRIDE GENERATION INDUCTIVELY COUPLED PLASMA OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY. With the objective to attain maximum productivity with small costs, organic and inorganic chemical parameters are used to evaluate and monitoring crops and animals development. Inorganic amounts in agronomic samples have great importance in the production evaluation. Some of elements in those samples could be an indicative of quality, owing to their requirement (Se) or toxicity (As, Sb), even when they are present in  $\mu\text{g kg}^{-1}$  levels, needing a technique with high sensibility for quantification. The aim of this work was the development of a simple system of hydride generation by continuous flow combined with an inductively coupled plasma optical emission spectrometry for simultaneous determination of As, Sb and Se in agronomic samples. The work attained to a gas-liquid separator development, and an experimental planning to established the chemical and instrumental conditions of hydride generation. The HCl,  $\text{NaBH}_4$  and KI concentrations, such as the R.F. power, carrier gas flow and the viewing height, were evaluated besides the study of a more appropriate sample preparation. Limits of detection of the proposed system were  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  for As, Sb and Se and the limits of quantification were 0.3, 0.2 and  $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$  for As, Sb and Se respectively with RSD smaller than 10% and 30 samples per hour of reading speed. In view to observe the accuracy, four different kinds of samples – forage and bovine-derived samples (blood, viscera and semen) were spiking with analytes concentration in the  $\mu\text{g L}^{-1}$  level. Recoveries around 77 to 112% were found. The results present the possibility to use the proposed system in agronomic projects developed with the objective to determine essential and toxic analytes in different kinds of feed and animal samples, contributing to evaluation of nutritional demands and the increase of efficiency in the bovine production systems.

## Sumário

---

1. INTRODUÇÃO .....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. GERAÇÃO DE HIDRETOS.....	5
2.1.1. Sistema de redução metal/ácido.....	5
2.1.2. Sistema de redução NaBH <sub>4</sub> /ácido.....	5
2.2. Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido (ICP OES).....	7
2.3. Sistema em fluxo contínuo (CF).....	7
2.4. Determinação de Arsênio em amostras biológicas .....	8
2.5. Determinação de Antimônio em amostras biológicas .....	10
2.6. Determinação de Selênio em amostras biológicas .....	11
2.7. PARÂMETROS QUÍMICOS PARA A GERAÇÃO DE HIDRETOS.....	13
2.7.1. A concentração ácida .....	14
2.7.2. A concentração do agente redutor.....	15
2.7.3. A concentração do agente pré-redutor .....	16
2.8. PARÂMETROS FÍSICOS PARA A GERAÇÃO DE HIDRETOS .....	20
2.8.1. Separador gás-líquido.....	20
2.8.2. Percurso analítico do sistema de fluxo contínuo (CF).....	20
2.8.3. Condições instrumentais do ICP OES .....	21
2.9. PREPARO DE AMOSTRA.....	21
3. OBJETIVOS .....	26
4. EXPERIMENTAL .....	28
4.1. SOLUÇÕES E REAGENTES.....	28
4.2. INSTRUMENTAÇÃO .....	29
4.2.1. Separador gás-líquido.....	31
4.3. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CF-HG-ICP OES.....	32
4.3.1. Sistema CF-HG.....	32
4.3.2. Planejamento Experimental .....	39
4.4. AMOSTRAS BIOLÓGICAS E INORGÂNICAS .....	41
4.5. PREPARO DAS AMOSTRAS .....	41
4.5.1. Amostra de marisco.....	41
4.5.2. Amostras biológicas e inorgânicas – ração, forrageira, silagem de milho, sangue, vísceras, carne, carcaça, sêmen e sal mineral. ....	43

4.6.	DESEMPENHO ANALÍTICO.....	45
4.6.1.	Curva Analítica de Calibração.....	45
4.6.2.	Validação do método proposto .....	45
5.	RESULTADOS E DISSCUSSÃO .....	48
5.1.	OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CF-HG-ICP OES.....	48
5.1.1.	Sistema CF-HG – estudos preliminares.....	48
5.1.2.	Planejamento experimental .....	55
5.2.	PREPARO DE AMOSTRA.....	62
5.2.1.	Amostras biológicas.....	62
5.2.2.	Otimização do tempo de aquecimento e da influência da desgaseificação .....	67
5.2.3.	Otimização do comprimento das bobinas de reação .....	68
5.2.4.	Otimização do preparo da amostra de marisco .....	69
5.3.	ESTUDO DE INTERFERENTES .....	70
5.4.	DESEMPENHO ANALÍTICO.....	72
5.4.1.	Curva analítica de referência.....	72
5.5.	APLICAÇÃO .....	74
6.	TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS .....	76
7.	CONCLUSÃO .....	78
8.	REFERÊNCIAS.....	80

# ***INTRODUÇÃO***

---

## 1. INTRODUÇÃO

O gado de corte requer pelo menos 17 minerais na sua dieta alimentar. Entre eles estão incluídos os macrominerais: cálcio, magnésio, fósforo, potássio, sódio, cloro e enxofre, e os microminerais: cromo, cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, níquel, selênio e zinco (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996). Outros, incluindo arsênio, boro, chumbo, silício e vanádio têm sido também considerados essenciais para algumas espécies animais. Muitos dos minerais essenciais são normalmente encontrados em concentrações suficientes nas pastagens e/ou silagens. Porém, outros minerais são freqüentemente insuficientes em dieta alimentar de gado sendo necessária suplementação para melhorar o desempenho e a saúde do animal.

Alguns elementos essenciais possuem uma faixa de concentração muito estreita, sendo muito próximo os teores essenciais e os tóxicos. Para estes elementos, mesmo concentrações muito baixas podem causar toxicidade ao gado e ao consumidor. Alumínio, arsênio, estrôncio, chumbo, mercúrio, flúor, cádmio e bromo são considerados tóxicos se estiverem em concentrações superiores àquelas de máxima tolerância pelo gado. Essa tolerância máxima é definida como sendo “o nível de dieta que, quando submetida ao animal em um período limitado, não irá diminuir seu desempenho e não deve produzir resíduos tóxicos na alimentação humana derivada do animal” (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1980). Vários desses minerais, presentes em tecidos vivos, encontram-se em concentrações tão pequenas (níveis de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) que, muitas vezes, não é possível determiná-los empregando a maioria dos métodos analíticos. Esses elementos são geralmente denominados “elementos traço” por estarem presentes em quantidades não detectáveis pelas técnicas normalmente empregadas nessas determinações (UNDERWOOD, 1977). Com o desenvolvimento de novas técnicas analíticas, tem-se conseguido analisar, com exatidão, elementos em concentrações extremamente baixas, sendo necessários estudos voltados ao correto preparo das amostras para se evitar contaminações e erros nas determinações.

A maioria das técnicas analíticas para a determinação de constituintes inorgânicos em amostras orgânicas e inorgânicas, requer que estas estejam na forma de uma solução aquosa. O método usado para se decompor uma amostra para análise depende da sua natureza, do elemento a ser determinado e sua

concentração (KRUG, 2000). No final da década de 70, a utilização da radiação microondas surgiu como uma ferramenta analítica para a decomposição de amostras. A utilização de frascos de alta pressão e ácidos oxidantes diluídos possibilitam excelentes e rápidas decomposições sem a necessidade de se realizar diluições. Esta estratégia de preparo tem sido aplicada a diversos tipos de amostras com resultados satisfatórios, o que tem permitido a eliminação de grande parte da matéria orgânica presente nas amostras, a redução de contaminações e o aumento da eficiência e da velocidade do processo de decomposição quando comparados aos métodos clássicos de abertura de amostras (KINGSTON e HASWELL, 1997). Essa estratégia torna as amostras adequadas para a determinação inorgânica de elementos traço.

A geração de hidretos (HG), acoplada a alguns sistemas de separação e detecção, tem sido uma das técnicas mais usadas para a derivatização de elementos voláteis, possuindo alta eficiência quando comparada a métodos de nebulização de soluções (HUEBER E WINEFORDNER, 1995).

A técnica de espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido (ICP OES) com nebulização pneumática não é sensível o suficiente para quantificar elementos traço, como Se e As. O acoplamento do sistema de geração de hidretos com o ICP OES possui como vantagens o aumento da sensibilidade, na ordem de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , devido à maior percentagem destes elementos chegarem ao atomizador. Além disso, apresenta alta precisão com boa velocidade analítica e, acima de tudo, a característica multielementar, possibilitando determinações simultâneas, uma vez que os mesmos reagentes são utilizados para a formação dos hidretos nas amostras.

Em função dos argumentos apresentados, esse trabalho procurou estabelecer condições adequadas para a determinação por ICP OES de As, Sb e Se em amostras de tecido e fluido biológico bovino. Os estudos envolveram sistema por geração de hidretos após o preparo das amostra empregando radiação microondas e ácidos diluídos.

# ***REVISÃO BIBLIOGRÁFICA***

---

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. GERAÇÃO DE HIDRETOS

#### 2.1.1. Sistema de redução metal/ácido

A técnica conhecida como reação de March (DEDINA, 1995 e STURGEON, 2002) usa o sistema metal/ácido, mais freqüentemente Zn/HCl, para produzir hidrogênio para posterior redução do analito a hidreto (equação 1).

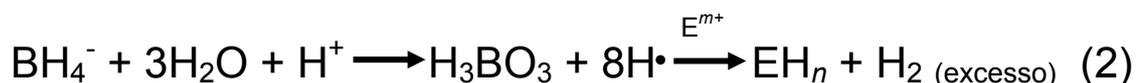


Onde  $m$  e  $n$  são respectivamente as valências do analito E na solução de amostra e no hidreto. Essa reação é lenta e de difícil automação.

#### 2.1.2. Sistema de redução NaBH<sub>4</sub>/ácido

BRAMAN E FOREBACK (1973), relataram o uso de soluções redutoras de tetraidroborato de sódio (NaBH<sub>4</sub>), estabilizadas em meio alcalino para a determinação de As e Sb.

A geração de hidretos é baseada na produção de hidrogênio, a partir da reação de borohidreto (BH<sub>4</sub><sup>-</sup>) com um ácido, mais freqüentemente HCl. A decomposição do BH<sub>4</sub><sup>-</sup> em meio ácido é muito rápida, da ordem de μs (DEDINA e TSALEV, 1995), o que resultará na rápida redução do analito contido na solução da amostra. A equação simplificada (LAKOTA et al., 1999) do processo é:



Essa técnica apresenta-se extremamente útil para a determinação de hidretos de As, Se, Sb, Bi, Ge, Sn, Pb, Te, Tl e In. Comparado aos sistemas tradicionais de nebulização, é muito mais seletiva e sensível (PRETORIUS et al, 1992) devido à alta eficiência de transporte do analito para o detector, gerando limites de detecção baixos e a eficiente remoção do analito da solução de amostra,

reduzindo as interferências espectrais (CENTINEO et al., 2000 e ROJAS et al., 2003).

Na Figura 1 é apresentado um esquema básico do sistema de geração de hidretos. A reação entre a amostra acidificada e o agente redutor,  $\text{NaBH}_4$  ocorre dentro de uma câmara onde a reação é completada até alcançar o separador gás-líquido. Quando os elementos são separados da solução na forma de gás, pouco ou nenhum líquido é carregado. Nesse ponto a fase líquida é separada da fase gasosa. A fase líquida é então drenada enquanto que a fase gasosa (hidretos formados) é transportada até o sistema de atomização/detecção, onde são decompostos na presença de hidrogênio (HUEBER e WINEFORDNER, 1995).

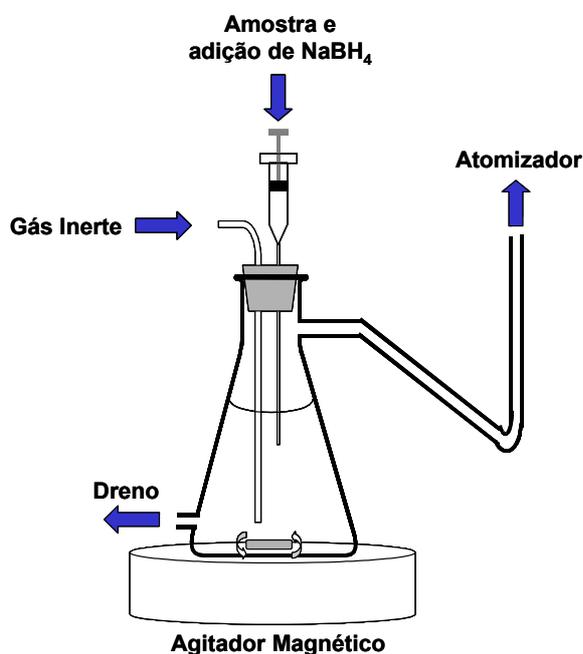


Figura 1. Esquema básico do sistema de geração de hidreto.

O sistema de geração de hidretos é de construção simples e emprega acessórios relativamente baratos. No entanto, o principal atrativo da técnica está na pré-concentração do analito e sua separação da matriz da amostra, oferecendo alta sensibilidade, baixos limites de detecção, além de poder ser facilmente automatizado (DEDINA e TSALEV, 1995).

## **2.2. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)**

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é uma técnica sensível e seletiva para detecção de vários elementos. Porém, alguns desses elementos são encontrados em concentrações traço, ou seja, muito baixos para serem determinados pela técnica de nebulização convencional da amostra, no entanto apresentam a vantagem de formar hidretos.

Quando a geração de hidretos é combinada a ICP OES, há um aumento na sensibilidade comparado a técnica convencional devido à alta eficiência de transporte do hidreto e a possibilidade de pré-concentração. Além do mais, a atomização e a excitação dos elementos que formam hidretos são muito eficientes, porque evitam o consumo de energia envolvida nos processos de dessolvatação e vaporização (TIAN et al., 1998) associados às amostras líquidas.

THOMPSON e colaboradores (1978), descreveram um sistema para geração de hidretos acoplado a um ICP para determinação simultânea de As, Sb, Bi, Se e Te em solução aquosa. Esse sistema apresentava limites de detecção superiores à pelo menos uma ordem de magnitude em comparação ao sistema convencional de introdução da amostra por nebulização. Feng e colaboradores (1998a) comentam que o H<sub>2</sub> gerado pela reação química pode causar a instabilidade ou até mesmo a extinção do plasma.

Devido à característica multielementar do ICP OES e às necessidades de se determinar teores de elementos em baixas concentrações, é interessante que sejam propostos métodos que possibilitem essas determinações, ampliando a aplicabilidade do equipamento e o fornecimento de resultados pelos laboratórios.

## **2.3. SISTEMA EM FLUXO CONTÍNUO (CF)**

Sistemas em fluxo oferecem algumas vantagens como: pequenos volumes de amostra e reagentes, reações ocorrendo “on-line”, além da rápida introdução da amostra (ABRANKÓ et al., 2003).

O acoplamento entre as técnicas HG-ICP OES e sistemas em fluxo produz um fluxo constante dos subprodutos formados, permitindo a estabilização do sinal de fundo antes e depois da introdução do analito (TAKASE et al., 2002).

Através da análise em fluxo contínuo, a amostra em solução aquosa pode receber reagentes, sofrer reações químicas, passar por etapas de separação, concentração, diluição, purificação e ser transportada em direção ao detector com interferência ou não do operador (BURGUERA, 1989).

O tempo de transporte entre o injetor e o detector é exatamente o mesmo para padrões e amostras. As determinações possuem elevada exatidão, precisão, sensibilidade e repetibilidade, além de ser um meio versátil para se executar análise de rotina em grande escala (é possível realizar mais de 100 determinações por hora). (REIS et al., 1989).

Em determinações simultâneas de elementos que formam hidretos, utilizando a técnica CF-HG-ICP OES, a eficiência de geração dos hidretos é particularmente dependente do estado de oxidação dos analitos (BOWMAN et al., 1997). Além disso, parâmetros experimentais, como a geometria do separador gás-líquido (CHANVAIVIT e BRINDLE, 2000), a concentração ácida empregada, o tempo de reação e a concentração do agente redutor ( $\text{NaBH}_4$ ) (LAKOTA et al., 1999), a velocidade com que os reagentes e a amostra são adicionados, o fluxo de nebulização do argônio que conduz o hidreto ao plasma (ROJAS et al., 2003), a temperatura de reação (STRIPEIKIS et al., 2000; BRUNORI et al., 1998) e os interferentes químicos/espectrais (POHL e ZYRNICKI, 2001; POHL e ZYRNICKI, 2002; RISNES e LUND, 1996; TAO e STURGEON, 1999) são outros pontos críticos para a determinação simultânea desses elementos.

#### **2.4. DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

Arsênio na crosta terrestre ocorre naturalmente na água e nos alimentos. Está presente em muitas formas químicas, principalmente como arsenito (As (III)) e arsenato (As(V)), produzindo arsina ( $\text{AsH}_3$ ). A razão entre essas duas formas depende do pH e das condições locais de oxidação ou redução, mas formas metiladas podem estar presentes como resultado da atividade biológica e antropológica, como o ácido monometilarsônio (MMAA,  $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$ ) produzindo o monometilarsênio (MMA,  $\text{CH}_3\text{AsH}_2$ ) e o ácido dimetilarsínico (DMAA,  $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$ ), produzindo o dimetilarsino (DMA,  $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$ ) (CARRERO et al., 2001, SHRAIM et al., 1999, SAMANTA et al., 1999, QUINÁIA e ROLLEMBERG, 2001).

Arsênio é um elemento potencialmente tóxico para humanos, animais e plantas. Uma vez ingerido, formas solúveis de arsênio são absorvidas a partir do trato gastrointestinal para o sangue e distribuídas para os órgãos e tecidos depois da primeira passagem pelo fígado (MANDAL et al., 2004). Mudanças na pigmentação da pele, queratoses e carcinomas podem estar associadas à contaminação por arsênio (QUINÁIA e ROLLEMBERG, 2001).

Os efeitos tóxicos do arsênio estão ligados a seus estados de oxidação. Sua toxicidade diminui na seguinte ordem: arsenito As (III) > arsenato As(V) > ácido monometilarsênio (MMAA) > ácido dimetil arsênio (DMAA) > arsenobetaina (AsB) (CARRERO et al., 2001; SAMANTA et al., 1999). Compostos de arsênio inorgânico são muito mais tóxicos do que as formas orgânicas e preferencialmente acumuladas nos organismos (WELZ e SPERLING, 1999).

Altos níveis de arsênio são encontrados em muitos animais marinhos (SIMON et al., 2004), preferencialmente na forma de arsenobetaina (AsB), espécie considerada não-tóxica (LAMBLE e HILL, 1996). MUÑOZ e colaboradores (2000) encontraram que espécies de arsênio inorgânico podem representar apenas 7% do total de arsênio em muitos alimentos marinhos.

No processo de geração de hidretos, o arsênio trivalente reage mais facilmente do que o pentavalente com o  $\text{NaBH}_4$ . O arsênio (V) deve ser previamente convertido a arsênio (III) utilizando-se um redutor apropriado (COELHO et al., 2002; FENG et al., 1994), que deve ser capaz de promover a completa pré-redução do arsênio (V) a arsênio (III).

Um redutor freqüentemente utilizado é o iodeto de potássio (KI), o qual tem sido usualmente empregado com ácido ascórbico (COELHO et al., 2002). Porém, um tempo elevado é necessário para a completa reação de pré-redução à temperatura ambiente. Uma alternativa é o uso de ligantes contendo o grupo tiol, como a L-cisteína como agente pré-redutor, pois permitem que a redução se proceda sob condições ácidas suaves (CARRERO et al., 2001; SHRAIM et al., 1999).

Alguns organoarsênicos (ex. AsB) mostram uma extraordinária estabilidade química (RINGMANN et al., 2002), pois nesses compostos o As está ligado ao carbono, o que impede a formação de hidretos voláteis. Para converter todo o As dessas espécies em As livre para a formação de hidretos voláteis é

necessário se fazer à quebra da ligação C-As, e para isso a eficiência do preparo de amostra é de grande importância para a determinação precisa de As nas amostras.

Muitos métodos de decomposição podem ser utilizados incluindo termo-oxidação, foto-oxidação e digestão radiação microondas (VILLA-LOJO et al., 2002). Esse último método tem a vantagem da alta eficiência de oxidação das espécies, rápida decomposição da amostra e simplicidade de operação, podendo ainda ser utilizada conjuntamente com processos de foto-oxidação.

## **2.5. DETERMINAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

Antimônio existe em 2 estados de oxidação (III e V) no meio ambiente e em amostras clínicas (PEÑA et al., 1990) e geológicas (DELACALLEGUNTINAS et al., 1991). Em ambientes aquáticos, ocorre principalmente como Sb (V) como resultado do desgaste de rochas (GARCIA et al., 1995). Sb (III) aparece devido à atividades antropogênicas e em menor parcela, como resultado de processos biológicos de redução (ANDREAE, 1977).

Sua aplicação é essencialmente industrial, como na fabricação de vidros e cerâmicas (CAVA-MONTESINOS et al., 2003) e como pigmentos de plásticos (GARCIA et al., 1995), mas também é usado em fármacos como estibogluconato e antimonato de meglumina na forma pentavalente para o tratamento da leishmaniose (OLIVEIRA-NETO et al., 2004)

A toxicidade do antimônio depende principalmente de seu estado de oxidação e do modo de transporte e assimilação pelos organismos vivos.

O antimônio acumula-se, em geral, em órgãos vascularizados e tecidos, principalmente rins e fígado, além de possuir grande afinidade pelo baço e pelo sangue. Uma quantidade expressiva de antimônio no sangue pode estar relacionada com a grande afinidade do Sb (III) pelos eritrócitos (GARCIA et al., 1995).

Antimônio tem recebido pouca atenção, pois não é considerado um elemento essencial a organismos vivos. Porém, é um elemento cumulativo e com características químicas e toxicológicas semelhantes ao arsênio (MIRAVET et al., 2004).

Desde que as atividades industriais podem produzir níveis de antimônio na faixa de  $\text{mg L}^{-1}$  (ANDREAE et al., 1981) podendo contaminar as águas, há a necessidade de sua quantificação.

Diferentes técnicas analíticas (ABRANKÓ et al., 2003; ORELLANA-VELADO et al., 2001; SCHRAMEL e XU, 1991; NAKAHARA e LI, 1998; TIAN et al., 1998; SILVA FILHO et al., 1999) têm sido aplicadas para a determinação de traços de antimônio em matrizes como sedimento, material biológico, ligas metálicas, medicamentos (RATH et al., 2003), alimentos, bebidas e outros.

Com o processo de geração de hidretos é possível determinar todo o antimônio da amostra. Porém,  $\text{Sb(V)}$  deve ser pré-reduzido a  $\text{Sb(III)}$  pois o  $\text{Sb(V)}$  não é completamente reduzido pelo  $\text{NaBH}_4$  em meio ácido para formar estibina ( $\text{SbH}_3$ ) e, assim como para o arsênio, o ponto crítico para que essa redução se processe eficientemente é a pré-redução de  $\text{Sb(V)}$  a  $\text{Sb(III)}$ . Dentre os agentes pré-redutores propostos, o mais comumente utilizado é o KI (POHL, 2004).

Alguns métodos de decomposição como digestão ácida assistida por radiação microondas com frascos de alta temperatura e pressão (KRACHLER et al., 2002), digestão ácida em bloco de aquecimento resistível com frascos abertos (KRACHLER et al., 1999) e digestão ácida por microondas com baixa pressão (WEISS et al., 1999) têm sido empregados no preparo das amostras para adequação de Sb. No entanto, deve ser observado que antimônio também é um elemento volátil, que pode ser perdido durante a decomposição e resultar em determinações de valores errôneos.

## **2.6. DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

A abundância do selênio no meio ambiente é variável. Pode ser encontrado naturalmente na água, predominantemente como selenato ( $\text{Se(VI)}$ ) e em menor extensão como selenito ( $\text{Se(IV)}$ ). Como resultado de atividade biológica, pode também ser encontrado na forma de selenocompostos organometilados.

Em organismos vivos, compostos como selenocistina ( $\text{SeCys}$ ), selenometionina ( $\text{SeMet}$ ), selenotionina e trimetilselênio ( $\text{TMSe}$ ) podem ser encontrados.

Algumas plantas têm a habilidade de acumular grandes quantidades de Se (ROSA et al., 2002), porém isso pode ser prejudicado em áreas que possuem

solo pobre em selênio, produzindo em consequência alimentos com baixo teor de Se (DIPLOCK, 1987).

Sabe-se que o selênio é um elemento nutricional essencial em baixas concentrações, mas tóxico em altas concentrações, com uma diferença muito pequena entre esses níveis (GALLIGNANI et al., 2000; LAFUENTE et al., 1996; FOSTER e SUMAR, 1996). Possui um papel singular como elemento traço essencial em humanos e animais (REILLY, 1993). O Se é um constituinte das enzimas *glutathione peroxidase* (GSHPx), a qual dispõe células de proteção contra doenças oxidativas (GALLIGNANI et al., 2000) e tioredoxin redutase (BECKER et al., 2000), além de ser um componente de numerosas selenoproteínas (KOHRLER et al., 2000, URSINI et al., 1999) e participar dos sistemas imunológico (HANSEN e DEGUCHI, 1996) e reprodutor (KLAPEC et al., 2004).

A deficiência de selênio é associada às doenças de Keshan (cardiomiopatia), osteoartrite e alguns tipos de câncer em humanos (RAYMAN et al., 1996) e também associada à distrofia muscular em ruminantes (FOSTER SUMAR, 1996).

A toxicidade do Se está relacionada com sua forma química. Espécies inorgânicas são mais tóxicas do que as orgânicas (BRUNORI et al., 1998). Um indicativo de intoxicação por selênio seria o hálito com odor de alho, mudanças morfológicas nas unhas e perda de cabelo.

A quantidade diária recomendada para humanos depende do sexo e da idade, mas é em torno de 75 µg de Se para o homem e 55 µg de Se para a mulher (HAYGARTH et al., 1994).

A grande concentração de Se em uma variedade de alimentos (vegetais, carnes, cereais, etc) e o estreito intervalo entre seu caráter essencial e tóxico, tornam muito importante sua determinação.

Várias técnicas para a determinação de Se como a espectrometria de absorção atômica (AAS) (KOS et al., 1998; NAVARRO et al., 1995; MORAES et al., 1995), espectrometria de fluorescência atômica (AFS) (D'ULIVO, 1989; PITTS et al., 1995; BRYCE et al., 1995; HILL et al., 1995), espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido (ICP OES) (SOUZA e MENEZES, 2004; OLIVEIRA, et al., 1983; PARKER et al., 1985; GOULDEN et al., 1981; SANTOS e OLIVEIRA, 2001), espectrometria de massas acoplada a plasma induzido (ICP- MS) (MOOR e KOBLER, 2001; FEATHERSTONE et al., 2004; ZHANG e COMBS, 1996) e

cromatografia líquida acoplada a ICP-MS (VONDERHEIDE et al., 2002) têm sido empregadas conjuntamente com a geração de hidretos.

Com o processo de geração de hidretos é possível determinar todo o Se da amostra. Quando  $\text{NaBH}_4$  é usado como agente redutor para a formação de hidreto de selênio, somente  $\text{SeH}_2$  é seletivamente formado a partir de Se (IV), porém faz-se necessária à etapa de pré-redução de Se (VI) a Se (IV) antes da adição de  $\text{NaBH}_4$ .

Vários agentes pré-redutores são propostos, mas os melhores resultados são obtidos com HCl, HBr, mistura de KBr e HCl e mistura de HCl:HBr (10% (v/v) cada) (GALLIGNANI et al., 2000).

Uma vez que o selênio é um elemento volátil, podendo ser perdido durante a etapa de preparo da amostra e com isso resultar em determinações de valores errôneos, alguns métodos de decomposição como digestão ácida assistida por radiação microondas com frascos de alta temperatura e pressão (ROSA et al., 2002, CAVA-MONTESINOS et al., 2003), digestão ácida em bloco de aquecimento resistível com frascos abertos (SCHRAMMEL e XU, 1991, RAYMAN et al., 1996, ZHANG e COMBS, 1996), combustão em bomba de oxigênio (LAMBERT e TUROSCZY, 2000) têm sido empregados no preparo das amostras.

## **2.7. PARÂMETROS QUÍMICOS PARA A GERAÇÃO DE HIDRETOS**

Sabe-se que a concentração dos reagentes usados na geração de hidretos (HCl,  $\text{NaBH}_4$  e KI) tem bastante influência na eficiência e na estabilidade da reação, devido à grande quantidade de sub-produtos formados.

Os elementos que formam hidretos foram no princípio determinados seqüencialmente (WATSON, 1986; EK et al., 1995; FENG et al., 1998a), devido às diferenças entre as condições químicas requeridas para uma eficiente geração dos hidretos.

Portanto, devido ao fato que as condições reacionais afetam consideravelmente a qualidade das medidas (sensibilidade, limite de detecção, precisão, etc.) realizados por ICP OES, existe a grande necessidade da otimização dos parâmetros químicos envolvidos na geração dos hidretos, principalmente para a determinação simultânea de alguns analitos.

### 2.7.1. A concentração ácida

Ácidos como  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{HNO}_3$ , têm sido empregados como meio reacional para a geração de hidretos. Porém o  $\text{HCl}$  é mais freqüentemente usado. É importante lembrar que a presença do meio ácido é necessária para gerar o hidreto. Quando a amostra é preparada com água desionizada em vez de  $\text{HCl}$ , a intensidade dos sinais pode diminuir acentuadamente (CADORE e BACCAN, 1997), mostrando que a presença de  $\text{H}^+$  é necessária para liberar o  $\text{H}_2$  que reagirá com os elementos que formam hidretos. Além disso, ele atua como agente pré-redutor para Se (DEDINA e TSALEV, 1995).

MORROW e colaboradores (1997), estudaram o efeito do  $\text{HCl}$  em uma faixa de concentração de 0,5 a 7  $\text{mol L}^{-1}$  para As, Sb, Bi, Ge, Se e Te. A concentração ótima encontrada para todos os elementos foi entre 5 e 7  $\text{mol L}^{-1}$ , exceto para Bi, porém os autores assumiram a concentração de 6  $\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{HCl}$ .

FENG e colaboradores (1998a) investigaram a influência do  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HClO}_4$  como meio reacional para a determinação seqüencial de arsênio, estanho, bismuto e antimônio em material certificado de sedimento marinho e concluíram que para esses 4 elementos, a concentração de 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{HCl}$  apresentou-se mais adequada, por gerar maiores intensidades em ICP.

COELHO e colaboradores (2002), estudaram o efeito da concentração de  $\text{HCl}$ , variando sua concentração de 0,5 a 3,0  $\text{mol L}^{-1}$ , para a determinação de As por FI-HG-AAS em amostras de água e, segundo seus estudos, a melhor condição foi  $\text{HCl}$  1,0  $\text{mol L}^{-1}$ , por apresentar melhores sinais analíticos.

RAYMAN e colaboradores (1996), determinaram Se em sangue por HG-ICP-MS e no seu estudo, concluíram que o aumento da concentração de  $\text{HCl}$  aumenta substancialmente o sinal de selênio. Além disso, o uso de altas concentrações de  $\text{HCl}$  reduz completamente Se (VI) a Se (IV).

Quando  $\text{HCl}$  é usado em altas concentrações, possui algumas vantagens como diminuição acentuada das interferências causadas pela fase líquida (DEDINA e TSALEV, 1995), por metais de transição (SCHRAMEL e XU, 1991) e acelera a pré-redução de As e Sb pelo KI (DEDINA e TSALEV, 1995). Porém, há o inconveniente de causar interferência na sensibilidade de  $\text{H}_2\text{Se}$  e  $\text{AsH}_3$ , uma vez que o  $\text{Cl}_2$  obtido como um sub-produto da reação "re-oxida" Se (IV) a Se (VI) (KRIVAN et

al,1985), quando HCl em altas concentrações é adicionado à solução de decomposição.

### 2.7.2. A concentração do agente redutor

Sais de  $\text{BH}_4^-$  ( $\text{Na}^+$  ou  $\text{K}^+$ ) são os mais comumente empregados para a geração de hidretos. O reagente  $\text{NaBH}_4$  tem se mostrado excelente na conversão de um grande número de analitos a formas voláteis, podendo o analito, ser transferido da fase líquida para a fase gasosa, resultando em maior eficiência de transferência do elemento para o detector do que, por exemplo, sistemas convencionais de nebulização.

O  $\text{NaBH}_4$ , não pode ser usado com displicência, pois esse reagente pode introduzir impurezas à reação de geração de hidretos e também produzir uma quantidade excessiva de  $\text{H}_2$  o que pode afetar o desempenho de alguns sistemas de detecção (ex.ICP OES) (STURGEON e MESTER, 2002). Além do mais, sua solução aquosa é muito instável.

MENEGÁRIO e colaboradores, (2000) observaram que depois de 3 horas, os sinais de As e Se diminuíram aproximadamente 5,0 e 3,5% respectivamente e esse decréscimo foi atribuído à degradação da solução de  $\text{NaBH}_4$ . Portanto, ela deve ser preparada em meio alcalino ( $\text{NaOH}$ ), pouco antes do uso, pois este atua como agente estabilizante da solução, prevenindo sua rápida decomposição (LEE e CHOI, 1996). Por outro lado, a adição de  $\text{NaOH}$  à solução de  $\text{NaBH}_4$  deve ser controlada, uma vez que pode afetar os sinais analíticos dos elementos (FENG et al., 1998b).

A literatura mostra que a concentração de  $\text{NaBH}_4$  na solução tem variado de 0,25% (m/v) (SMICHOWSKI e MARRERO, 1998) a 10% (m/v) (TEMPRANO et al., 1993) e a de  $\text{NaOH}$  de 0,1 a 2,0% (m/v) (STURGEON e MESTER, 2002), dependendo do número de elementos que formam hidretos, do tipo de matriz da amostra, do tipo de fonte de excitação e do separador gás-líquido. No entanto, 1% (m/v) tem sido a concentração de  $\text{NaBH}_4$  mais empregada (FENG et al., 1998b, PRETORIUS et al., 1992).

Para a determinação simultânea de As, Sb e Se pelo método da geração de hidretos combinada com a espectrometria de absorção molecular com fase gasosa (GPMAS) PINILLOS e colaboradores (1995), recomendam a

concentração de 4% de  $\text{NaBH}_4$  e  $\text{HCl}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Concentrações mais elevadas resultaram em decréscimos nos sinais de absorvância para  $\text{SeH}_2$ , que os autores atribuíram à grande produção de  $\text{H}_2$ .

TAO e colaboradores (1999) estudaram os efeitos de interferência de metais de transição sobre a intensidade do sinal de selênio por ICP OES, variando as concentrações de  $\text{NaBH}_4$  e concluíram que 0,5% de  $\text{NaBH}_4$  e  $\text{HCl}$   $4,8 \text{ mol L}^{-1}$  diminuíam essas interferências.

RIBEIRO e colaboradores (2004) concluíram que  $\text{NaBH}_4$  1% (m/v) produz as melhores sensibilidades para As, Sb, Se, Sn e Hg em meio  $\text{HCl}$  8,5% (m/v), para amostras ambientais.

Muitos estudos foram feitos quanto à otimização da concentração de  $\text{NaBH}_4$  para a geração de hidretos (RIBEIRO et al., 2004, PINILLOS et al., 1995, TAO e STURGEON, 1999 e CADORE e BACCAN, 1997) e todos concordam que altas concentrações do agente redutor, apesar de aumentar o sinal do analito, torna a reação turbulenta, devido à grande produção de  $\text{H}_2$ , resultando em uma pobre reprodutibilidade da análise e altos valores de branco analítico.

### **2.7.3. A concentração do agente pré-redutor**

Sabe-se que arsênio, selênio e antimônio existem em solução em 2 estados de oxidação, mas infelizmente a redução com  $\text{NaBH}_4$  não é eficiente para esses metais em seus estados mais altos de oxidação, pois têm reduzida capacidade de gerar hidretos (BOWMAN et al., 1997; HALICZ e RUSSELL, 1986). Por esse motivo, uma variedade de procedimentos para a digestão de amostras são descritas na literatura como sendo satisfatórios, pois todos eles levam os analitos a seus estados de oxidação mais alto, tornando difícil determinações simultâneas de selênio, arsênio e antimônio por geração de hidretos (OLIVEIRA et al., 1983).

A conversão desses analitos após a digestão ácida a seus estados de oxidação ideal é requerida antes da reação de redução com  $\text{NaBH}_4$ .

#### **2.7.3.1. A pré-redução de arsênio e antimônio**

A pré-redução de  $\text{As(V)}$  a  $\text{As(III)}$  é muito similar à de  $\text{Sb(V)}$  a  $\text{Sb(III)}$ , mas pode requerer maior concentração do agente redutor e maior tempo de reação.

Soluções pré-redutoras preparadas para a redução de arsênio podem ser usadas para a redução de antimônio, porém a recíproca não é verdadeira.

Redutores com potencial redox menor do que os pares As(V)/As (III) e Sb(V)/Sb (III), como por exemplo, iodeto (NYGAARD et al., 1982; PRETORIUS et al., 1992) ou uma combinação iodeto/ácido ascórbico (RINGMANN et al., 2002; CAVAMONTESINOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 1983), L- cisteína (MUÑOZ et al., 1999; FENG, et al., 1998a; SUN et al., 2004) ou tiuréia (BOWMAN et al., 1997, UGGERUD e LUND, 1995, MENEGARIO et al., 2000), podem ser usados como pré-redutores para arsênio e antimônio.

Iodeto (KI ou NaI) é o pré-redutor comumente usado para arsênio e antimônio (DEDINA e TSALEV, 1995).

O potencial de redução padrão,  $E^0$ , do sistema apresentado pela equação 3, é +0,54 V (ATKINS, 1994), o qual é menor do que os potenciais padrão dos pares As(V)/As (III), +0,56 V e Sb(V)/Sb (III), +0,58 V. (LURIE, 1975).



Isso significa que As(V) e Sb(V) podem ser reduzidos a As (III) e Sb (III) enquanto  $I^-$  é oxidado a  $I_2$ .

As reações redox de As(V) e Sb(V) a As (III) e Sb (III) pelo iodeto podem ser descritas pelas equações 4 e 5.



O equilíbrio dessas reações pode ser deslocado para a direita, no sentido da formação dos produtos e esse deslocamento é dependente da concentração de iodeto, da acidez da amostra e da temperatura (KRIVAN et al., 1985).

Para determinações simultâneas de elementos que formam hidretos, a análise em fluxo tem sido muito empregada, pois permite que os hidretos sejam gerados em linha. Porém, o KI usado para a pré-redução de As(V) e Sb(V) a As (III)

e Sb (III) também reduz o Se (IV) a Se (0), o qual não forma hidreto. Para contornar esse problema, NYGAARD e colaboradores (1982) desenvolveram uma configuração no qual o KI é adicionado depois da adição de NaBH<sub>4</sub>, pois assim o hidreto de Se é formado antes de ser reduzido a Se (0) e a redução de As(V) e Sb(V) ao estado de oxidação (III) no qual seus hidretos são formados, ocorre com sucesso.

SCHRAMMEL e colaboradores (1991) propuseram um procedimento no qual KI 2% (m/v) é adicionado à solução de NaBH<sub>4</sub> 3% (m/v) para a geração simultânea de alguns hidretos e concluíram: não há redução de Se (IV) a Se (0), a intensidade de antimônio foi aumentada em 40% e tanto o As(V) quanto o As (III) puderam ser recuperados.

MORROW e colaboradores (1997) estudaram o efeito da concentração de KI em meio HCl 6 mol L<sup>-1</sup> sobre a intensidade de emissão de alguns elementos e observaram um aumento na intensidade de Sb com 10% (m/v) de KI. Porém, para As e Se, a intensidade foi menor do que a obtida em baixas concentrações e então os autores escolheram a concentração de 7,5% (m/v) de KI.

### 2.7.3.2. A pré-redução de selênio

O potencial redox do par Se (VI)/Se (IV) em solução ácida 1 mol L<sup>-1</sup> pode ser entre 0,88 e 1,151 V e o potencial padrão redox do par Se (IV)/Se (0) está entre 0,74 e 0,875 V (LURIE, 1975). Pré-redutores com potencial redox menor do que o potencial redox do par Se (IV)/Se (0) não são indicados, pois na sua presença Se (VI) é levado a Se (0), a partir do qual nenhum hidreto é formado. Esse fenômeno pode ser observado pela precipitação de selênio elementar.

Numerosos agentes pré-redutores com potencial redox entre os potenciais redox dos pares Se (VI)/Se (IV) e Se (IV)/Se (0) são descritos na literatura, porém os melhores resultados são obtidos com HCl, HBr, uma mistura de KBr e HCl e uma mistura de HCl:HBr (10% (v/v)) (1:1). (GALLIGNANI et al., 2000). No entanto, grande preferência tem sido dada ao HCl, uma vez que, além de atuar como excelente pré-redutor, ele é freqüentemente utilizado como meio reacional para a geração de hidretos de modo geral.

A reação redox de Se (VI) a Se (IV) pelo cloreto pode ser descrita pela equação 6.



Sendo a constante de equilíbrio,  $K$ , igual a  $7,1 \times 10^{-11} \text{ Kg}^{-4} \text{ mol}^{-4}$  e a variação de entalpia,  $\Delta H$ , igual a  $+ 144,9 \text{ KJ mol}^{-1}$  à temperatura ambiente.

A literatura tem apresentado uma variedade de estudos sobre a influência da temperatura, do tempo de aquecimento e da concentração do pré-reduzidor na completa pré-redução de selênio. Aquecimento em banho-maria e radiação microondas são os mais discutidos, com tempos de aquecimento que variam de 1 a 90 minutos.

KRIVAN e colaboradores (1985) concluíram que 97% do selênio permanece como Se (VI) em HCl  $5 \text{ mol L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ . Isso significa que a reação é endotérmica da esquerda para a direita à temperatura ambiente e que o equilíbrio da reação pode ser deslocado para a direita pelo aumento da temperatura. Os autores encontraram recuperações reprodutíveis de  $97 \pm 1\%$  de Se (IV) com apenas 15 min de aquecimento em banho-maria a  $100^\circ\text{C}$ .

BOWMAN e colaboradores (1997) desenvolveram um sistema de geração de hidretos de As, Sb e Se acoplado a um espectrômetro de massas para amostras de água no qual a amostra em HCl  $5 \text{ mol L}^{-1}$  era aquecida entre  $80\text{-}85^\circ\text{C}$  em banho-maria por 90 min.

BRUNORI e colaboradores (1998) fizeram estudos para a otimização da redução de Se (VI) a Se (IV) em forno com radiação microondas e encontraram redução quantitativa aplicando 100% da potência (600 W) por 2 min em meio HCl  $6 \text{ mol L}^{-1}$  e 3 min em meio HCl  $4 \text{ mol L}^{-1}$ .

STRIPEIKIS e colaboradores (2000) propuseram um sistema de análise por injeção em fluxo acoplado à técnica de geração de hidretos em espectrômetro de absorção atômica para a determinação de selênio, no qual a completa redução de Se (VI) a Se (IV) em HCl  $6,8 \text{ mol L}^{-1}$  se dava em linha, em torno de 1 minuto.

O controle da temperatura em qualquer desses tipos de aquecimento deve ser rigoroso, pois têm sido relatadas perdas de selênios a altas temperaturas. Essas perdas são atribuídas à volatilização de cloretos de selênio e à re-oxidação de Se (IV) a Se (VI) quando altas concentrações de HCl são usadas (DEDINA e TSALEV, 1995), formando  $\text{Cl}_2$  em larga quantidade na reação entre HCl e  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

## **2.8. PARÂMETROS FÍSICOS PARA A GERAÇÃO DE HIDRETOS**

### **2.8.1. Separador gás-líquido**

O hidreto liberado a partir da solução de amostra é transportado por um fluxo de gás (exemplo: Ar) até o atomizador. A eficiência deste transporte dependerá principalmente da configuração do separador gás-líquido (ADKINS et al., 1995, CHANVAIVIT e BRINDLE, 2000), que deve ser eficiente no transporte dos analitos, na separação da fase gasosa da fase líquida e evitar a extinção do plasma. Como resultado, há um aumento na seletividade e na sensibilidade de determinação em muitas ordens de magnitude

Porém, para melhorar o desempenho analítico (a intensidade do sinal e a reprodutibilidade das medidas), reduzir os efeitos de memória e os problemas causados pelo excesso de H<sub>2</sub> produzido, diferentes tipos de separador gás-líquido têm sido empregados. PACEY e colaboradores (1986) usaram uma membrana porosa de PTFE, HUEBER e WINEFORDNER (1995) usaram um gerador eletrolítico para As, Se e Sb e FENG e colaboradores (1994) um gerador concêntrico para arsênio.

SCHRAMEL e XU (1991) determinaram arsênio, antimônio, bismuto, selênio e estanho em amostras de água e sedimentos por geração de hidretos em fluxo contínuo, usando apenas a câmara de nebulização do ICP, como separador gás-líquido.

### **2.8.2. Percurso analítico do sistema de fluxo contínuo (CF)**

Os hidretos são formados quando a amostra reage com a solução de NaBH<sub>4</sub>. Logo, a bobina de reação representa o tempo necessário para que a reação se complete (SMICHOWSKI e MARRERO 1998). Por exemplo: uma bobina de reação pequena pode causar liberação do hidreto e uma bobina longa o aumento do risco de interferentes da fase líquida, além de aumentar o volume de amostra e reagentes do sistema e causar a diluição do analito. Esse parâmetro deve ser controlado de maneira a assegurar a total formação do hidreto e a menor diluição possível.

Para uma boa mistura de amostras e reagentes, o fluxo dos reagentes não deve ser muito baixo em relação ao da amostra (KARTHIKEYAN et al., 1999). O aumento da sensibilidade em sistemas em fluxo está diretamente relacionado com o aumento proporcional do fluxo da amostra e reagentes. No entanto, um aumento elevado no fluxo de  $\text{NaBH}_4$  leva a uma maior produção de gás  $\text{H}_2$ , podendo causar a extinção do plasma.

### **2.8.3. Condições instrumentais do ICP OES**

Os efeitos mais significativos sobre a intensidade dos analitos são produzidos por variações na potência de radiofrequência (R.F.) do plasma, na altura de observação e no fluxo do gás transportador para sistemas de nebulização convencional. No entanto, têm muita importância na determinação de elementos que formam hidretos voláteis.

A potência de R.F. do plasma tem influência direta na intensidade dos elementos que formam hidretos, assim como acontece com sistemas de nebulização normalmente usados (JAMOSSI et al., 1996; GARCIA et al., 1995; WLODARCZYK e ZYRNICKI, 2003; GONG et al., 2001).

Em geral, a altura de observação mais adequada para elementos que formam hidretos é a mesma usada para soluções nebulizadas

Sabe-se que o fluxo do gás carregador (Ar) afeta a transferência dos hidretos do separador gás-líquido para o plasma (POHL, 2004). Baixos fluxos do gás carregador, menores que  $0,8 \text{ L min}^{-1}$ , favorecem a decomposição dos hidretos antes que eles atinjam a altura de observação ideal, além de aumentar o tempo de residência dos analitos no plasma fornecendo com isso, maiores intensidades. (CARRIÓN et al., 2003; ROJAS et al., 2003; FENG et al., 1997; FENG et al., 1998a; ORELLANA-VELADO et al., 2001).

## **2.9. PREPARO DE AMOSTRA**

Uma das primeiras etapas na análise química é o preparo da amostra para a investigação (VANDECASTEELE e BLOCK, 1993).

O tratamento da amostra pode envolver uma transformação substancial da espécie química de interesse, pois a grande maioria das técnicas analíticas, como a espectrofotometria de absorção molecular, espectrometria de absorção/emissão atômica e métodos eletroquímicos, utilizados para determinações de metais, requer que as amostras estejam na forma de uma solução aquosa, livres da matéria orgânica (KINGSTON e HASWELL, 1997). Além disso, as amostras na forma aquosa são mais versáteis do que na forma de sólidos.

O maior problema no preparo de uma amostra para análises na faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  é o risco de contaminação, devido a diferentes causas, como a pureza do reagente empregado, os frascos empregados para estocagem, digestão ou diluição das amostras ou aos erros relacionados à coleta e manipulação da amostra. Uma técnica de decomposição adequada deverá evitar erros sistemáticos, perdas por volatilização ou digestão incompleta, ser reprodutível, apresentar baixos limites de detecção (baixos valores do branco), ser segura e, sempre que possível, ser simples e rápida, com mínima manipulação da amostra.

No final da década de 70, a utilização da radiação microondas (MW) surgiu como uma ferramenta analítica para decomposição de amostras. A utilização de frascos de alta pressão e ácidos oxidantes concentrados proporciona excelentes e rápidas decomposições. Porém vários parâmetros são relevantes nessas digestões, como a massa de amostra, o tipo de ácido, o volume de reagentes, a concentração de mistura ácida, a temperatura, a pressão e o tempo de aquecimento.

A eliminação da matéria orgânica é de grande importância para a determinação de íons metálicos em solução (KNAPP et al., 1998; ALLAIN et al., 1991) e principalmente para a determinação de elementos que formam hidretos.

Materiais biológicos, ricos em proteína e gorduras, requerem altas temperaturas de decomposição ou o uso de diferentes misturas oxidantes (CARRILHO et al., 2001). Já materiais biológicos marinhos, ricos em compostos como arsenobetaína, requerem condições mais drásticas de digestão, além daquelas já citadas, como por exemplo, o emprego de decomposição microondas associado à radiação ultravioleta (VILLA-LOJO et al., 2002; SIMON et al., 2004).

Procedimentos empregando ácidos concentrados a quente são normalmente utilizados para este preparo. O  $\text{HNO}_3$ , por exemplo, é um ácido forte e um agente oxidante bastante poderoso, freqüentemente empregado para a dissolução de alguns elementos como Se, Te, As e para a maioria dos íons

metálicos. Porém, ácidos concentrados são suscetíveis a contaminações e a elevada concentração ácida final pode ser prejudicial a algumas técnicas analíticas para determinação de elementos ao nível de traços, como a geração de hidretos acoplada a um ICP-MS/OES (KINGSTON e HASWELL, 1997) pois, os  $\text{NO}_x$  produzidos causam forte interferência no sinal dos analitos (FLORES et al., 2001; DEDINA e TSALEV, 1995).

A utilização de ácidos diluídos para a decomposição de compostos orgânicos é uma opção descrita na literatura. Soluções diluídas de  $\text{HNO}_3$  têm sido empregadas com sucesso em digestões de plantas assistidas por radiação microondas, gerando baixos valores de brancos analíticos e baixos desvios padrão relativos. (ZHOU et al., 1996; CHOW et al., 1995; DUGENEST et al., 1998; ARAÚJO et al., 2002).

Procedimentos usando baixos volumes de ácido ou soluções de ácidos diluídos geralmente requerem um agente oxidante auxiliar, como o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Observa-se uma diminuição de resíduos sólidos e de carbono orgânico residual quando grandes volumes de  $\text{H}_2\text{O}_2$  são usados (ARAÚJO et al., 2002). Além disso, o uso de maiores quantidades de  $\text{H}_2\text{O}_2$  causa um aumento de pressão, levando a uma eficiente oxidação da matéria orgânica a baixas temperaturas.

A possibilidade de diminuir o volume dos reagentes empregados é um atrativo do ponto de vista de minimizar os resíduos, custo, diminuição dos valores de branco e gerar digeridos com concentração ácida final menor, adequados a determinação de elementos que formam hidretos em ICP OES.

## ***OBJETIVOS***

---

### **3. OBJETIVOS**

Definição das melhores condições (químicas e físicas) para a determinação simultânea de arsênio, antimônio e selênio em material agronômico pela técnica de geração de hidretos combinada à análise em fluxo acoplada a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (CF-HG-ICP OES).

***EXPERIMENTAL***

---

## 4. EXPERIMENTAL

### 4.1. SOLUÇÕES E REAGENTES

**Soluções padrão de referência:** Soluções estoque padrão ICP de As (V), Sb (V) e Se (VI) com concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  da Teclab (São Paulo, Brasil), foram diluídas com solução de  $\text{HNO}_3$  1% (v/v), produzindo solução estoque  $5 \text{ mg L}^{-1}$ , da qual uma solução de trabalho  $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  foi empregada para a otimização do sistema. Dessa forma, curvas de calibração adequadas à quantificação eram obtidas. Os padrões com concentrações na grandeza de  $\mu\text{g L}^{-1}$  eram preparados no dia de sua utilização.

**Ácido Clorídrico 36,5-38% (v/v) (HCl):** ácido concentrado da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para acidificar as amostras para uma concentração final de  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  e para ser usado como agente pré-redutor para selênio.

**Ácido Nítrico 60% (v/v) ( $\text{HNO}_3$ )** – ácido concentrado da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado com principal ácido oxidante. Solução  $5,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$  foi obtida desse ácido.

**Borohidreto de sódio 97% (m/m) ( $\text{NaBH}_4$ ):** sal de  $\text{NaBH}_4$  da marca Nuclear (São Paulo, Brasil) foi empregado como agente redutor dos elementos que formam hidretos. Solução 1,1% (m/v) desse sal era preparada diariamente.

**Hidróxido de Sódio 98% (m/m) ( $\text{NaOH}$ ):** base da marca Vetec (São Paulo, Brasil) foi utilizada como meio estabilizador da solução de  $\text{NaBH}_4$  na concentração final de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

**Iodeto de potássio 99% (m/m) (KI):** sal da marca Synth (Brasil) foi utilizado como agente pré-redutor de arsênio e antimônio. Solução 8,3% (m/v) desse sal era preparada diariamente

**Peróxido de Hidrogênio 30% (m/m) (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)** – o peróxido da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado concentrado em todas as decomposições de amostras.

**Persulfato de potássio 99% (m/v)** – sal da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado como agente oxidante para o preparo de amostras. Solução 15% (m/v) foi obtida desse sal.

Todas as soluções utilizadas foram preparadas empregando-se reagentes de pureza analítica e água ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Toda vidraria utilizada neste trabalho foi lavada e em seguida recebeu tratamento para desmineralização, que consiste em imersão por um período de 12 h em banho de ácido nítrico 10%. Após esse período, foi feita lavagem abundante com água ultrapura.

#### **4.2. INSTRUMENTAÇÃO**

**ICP OES:** Espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio induzido (ICP-OES), empregando visão radial, Vista RL da Varian (Mulgrave, Austrália) equipado com nebulizador concêntrico e câmara de nebulização tipo ciclone e faixa de comprimento de onda de 167 a 785 nm, sendo que seu sistema óptico purgado com argônio foi utilizado na determinação dos hidretos de Se, As e Sb.

**GFAAS:** Espectrofotômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite, SpectrAA 880 Z da Varian (Mulgrave, Austrália), equipado com corretor de fundo tipo Zeeman, auto-amostrador acoplado e ultralâmpadas de catodo oco com comprimento de onda de 196,0 nm e corrente de 15 mA e 193,7 nm e corrente de 15 mA respectivamente para selênio e arsênio foi usado como técnica comparativa.

**Bomba peristáltica:** de 8 canais modelo Ismatec (EUA) foi usada para o direcionamento de amostras e reagentes ao separador gás-líquido.

**Injetor comutador:** de 3 vias, construído em acrílico (KRUG et al., 1986) foi usado durante os experimentos.

**Separador gás-líquido:** Desenvolvido em vidro borossilicato, especialmente para o trabalho proposto .

**Forno de microondas:** com frascos de Teflon modificado e com frascos de quartzo fechados para a digestão das amostras, (Multiwave, Anton Parr Áustria).

**Lâmpadas de UV ativadas por radiação microondas:** Lâmpadas UV ativadas por radiação microondas (MWL) são confeccionadas em quartzo e preenchidas com argônio e vapor de cádmio em baixa pressão. Essas lâmpadas em temperaturas de 250 – 280 °C, atingem as condições ideais de pressão de vapor ( $1 \times 10^{-3}$  a  $1 \times 10^{-2}$  Torr) para a geração de radiação UV na região de 200 a 280 nm. A placa de molibdênio, recoberta com quartzo para evitar o contato com a amostra, faz o papel de uma antena que absorve as microondas e aquece o filamento de tungstênio, localizado entre a placa de molibdênio e o bulbo de quartzo, que excita os vapores de cádmio emitindo radiação ultravioleta (Figura 2).

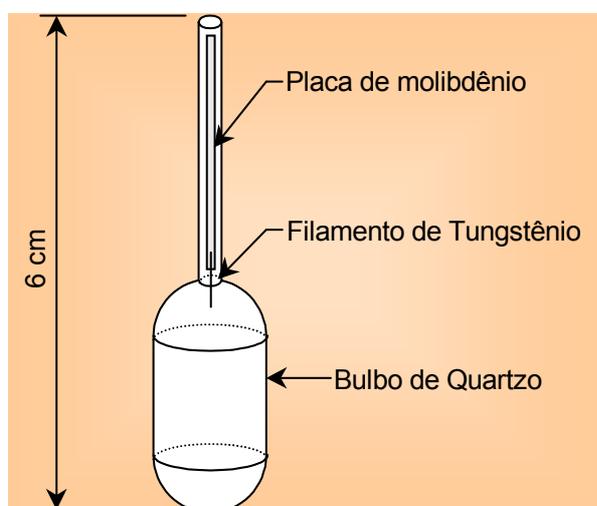


Figura 2. Esquema da MWL (microwave lamp).

As MWL foram inseridas no interior dos frascos fechados juntamente com a amostra e agentes oxidantes, sendo aquecidos pelo melhor programa estabelecido.

#### 4.2.1. Separador gás-líquido

O separador gás-líquido foi confeccionado em vidro borossilicato e é apresentado na Figura 3.

O sistema de análise em fluxo empregou tubos de polietileno, em que a amostra e os reagentes se misturam para que ocorra a geração de hidretos. Chega continuamente ao separador gás-líquido, (por A), uma solução líquida contendo gases hidretos e  $H_2$ , onde serão separados do líquido pelo gás de arraste argônio (Ar) (que entra por G), e os direcionará até o plasma. O gás de arraste usado neste sistema foi adaptado usando o gás de nebulização do ICP OES.

No separador gás-líquido descrito, o líquido é permanentemente drenado (em D) pela bomba peristáltica, com fluxo de saída maior ou igual ao de entrada, por isso foram necessárias duas saídas para drenagem.

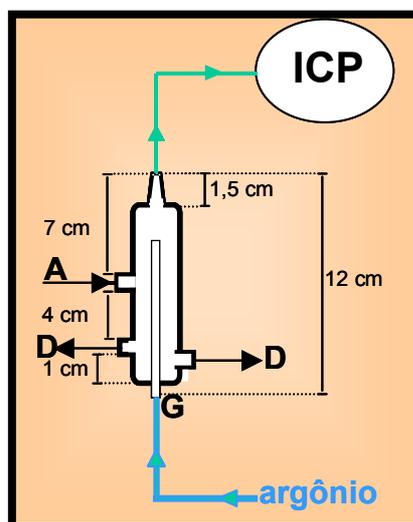


Figura 3. Separador gás-líquido desenvolvido e confeccionado em vidro.

### **4.3. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CF-HG-ICP OES**

A eficiência da geração de hidretos é fortemente dependente das condições experimentais e dos parâmetros instrumentais do aparelho. Sabe-se que a influência do fluxo de nebulização do argônio usado como transportador dos analitos voláteis do separador gás-líquido em direção ao plasma é determinado pelo desenho do separador gás-líquido (ADKINS et al., 1995, CHANVAIVIT e BRINDLE, 2000).

A otimização dos parâmetros físicos do sistema CF-HG e das condições químicas e instrumentais foi realizada simultaneamente para os elementos As, Sb e Se usando 2 comprimentos de onda de máxima emissão e com menor número de interferentes espectrais, especialmente outros elementos que formam hidretos e elementos de transição. As linhas utilizadas foram; 188,980 e 193,696 nm para As, 206,834 e 217,582 nm para Sb e 196,026 e 203,985 nm para Se.

#### **4.3.1. Sistema CF-HG**

Estudos preliminares foram conduzidos para a otimização das condições de fluxo do sistema CF-HG. Os parâmetros de fluxo da amostra, transportador, reagentes e influência de KI como pré-redutor de As e Sb foram investigados utilizando solução multielementar de As, Sb e Se 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Cada parâmetro foi variado individualmente, enquanto as outras condições eram mantidas constantes. Os valores de intensidade para cada elemento foram usados como critério para a escolha das melhores condições.

Foram projetadas 3 configurações do sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Se e Sb por ICP OES até se obter uma configuração definitiva. A cada sistema projetado, faziam-se variações nos fluxos de amostra, reagentes e limpeza a fim de se obter os maiores valores de intensidade para cada um dos analitos.

4.3.1.1. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração A.

Na Figura 4, a amostra, o HCl e o NaBH<sub>4</sub> são bombeados continuamente. Na confluência D, a amostra recebe o HCl sendo misturados em b<sub>1</sub>. Na confluência E, a amostra acidificada recebe NaBH<sub>4</sub>, sendo misturados em b<sub>2</sub> ocorrendo à redução dos elementos gerando os hidretos e H<sub>2</sub> e então direcionados ao separador gás-líquido, por A.

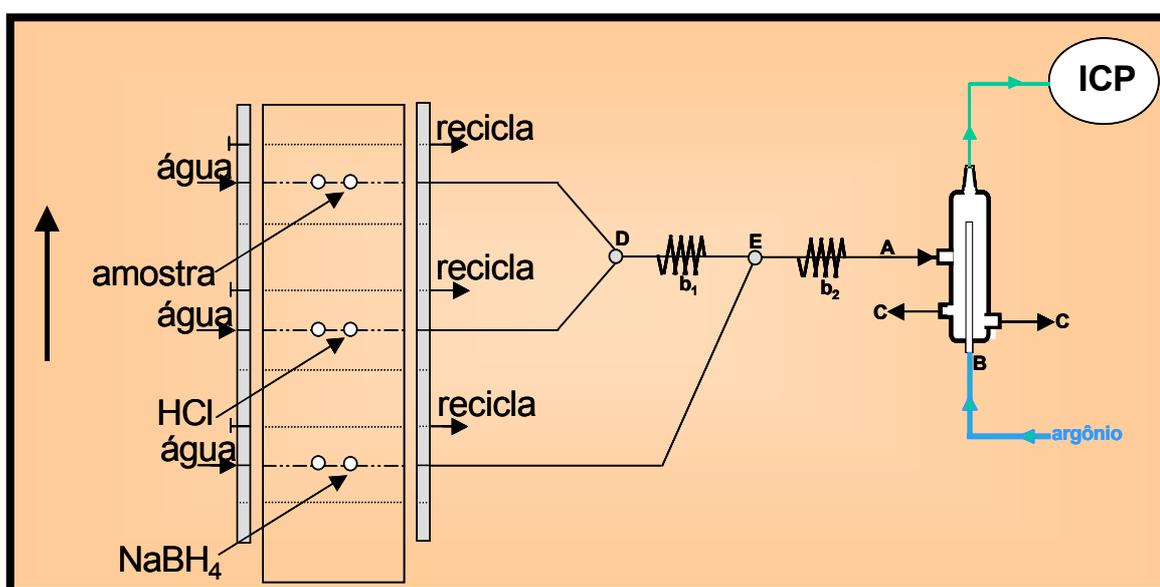


Figura 4. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Se e Sb por ICP OES. Amostra = solução analítica de As, Sb e Se 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; solução de HCl = 6,0 mol  $\text{L}^{-1}$ ; solução de NaBH<sub>4</sub> = 1% (m/v); Bobinas de mistura: b<sub>1</sub> = 50 cm e b<sub>2</sub> = 25 cm. Configuração A

Após o início da aquisição dos sinais analíticos pelo ICP OES, o injetor-comutador é deslocado para a posição em que os reagentes e amostra são reciclados e para a limpeza do percurso analítico.

A Tabela 1 mostra os parâmetros inicialmente fixados para avaliação do sistema para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por CF-HG-ICP OES.

Tabela 1. Parâmetros fixados para avaliação da Configuração A para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por CF-HG-ICP OES.

Condições iniciais do ICP OES	
Potência	1,2 Kw
Fluxo de nebulização do argônio	0,90 L min <sup>-1</sup>
Altura de observação do plasma	8,0 mm
Amostra e reagentes	
Amostra analítica multielementar de As (V), Se (VI) e Sb (V)	100 µg L <sup>-1</sup>
Solução de NaBH <sub>4</sub>	1% (m/v) em NaOH 0,1 mol L <sup>-1</sup>
Solução de HCl	6,0 mol L <sup>-1</sup>
Condições de fluxo	
Vazão da amostra	0,88 mL min <sup>-1</sup>
Vazão dos reagentes	2,8 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de limpeza	0,88 mL min <sup>-1</sup>

4.3.1.2. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração B.

Na Figura 5, a única diferença em relação ao sistema anterior é quanto à limpeza que se dá por uma confluência (F), posicionada antes do injetor-comutador. Essa modificação foi feita para que fosse usado apenas um canal da bomba peristáltica, pois no sistema anterior eram usados três canais para entrada do fluxo de limpeza.



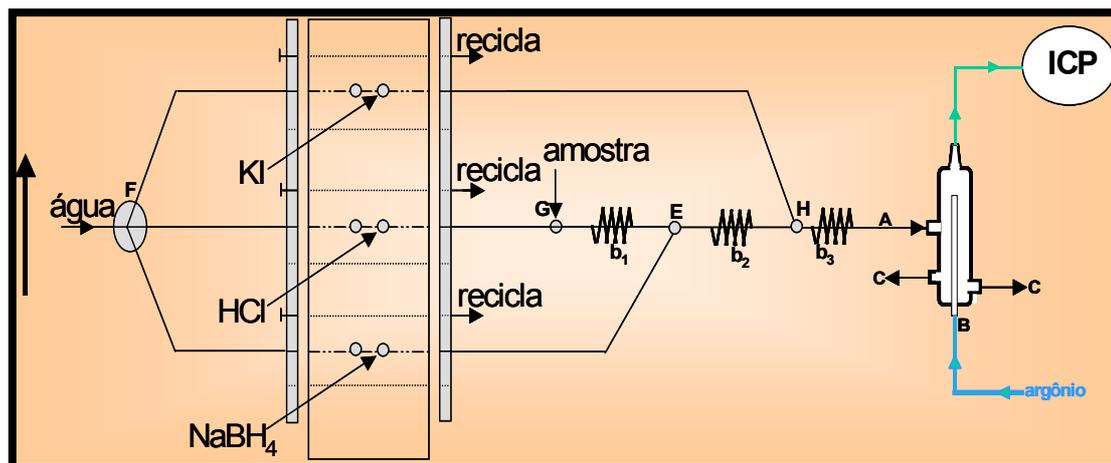


Figura 6. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES, empregando agente pré-redutor para As e Sb depois da adição de  $\text{NaBH}_4$ . Amostra = solução analítica de As, Sb e Se  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ; solução de HCl =  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ ; solução de  $\text{NaBH}_4$  = 1% (m/v); solução de KI = 8% (m/v). Bobinas de mistura:  $b_1$  e  $b_2$  = 50 cm e  $b_3$  = 25 cm. Configuração C.

#### 4.3.1.4. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração D.

Este sistema, apresentado na Figura 7, foi proposto de modo a evitar a adição do ácido em linha, pois as conexões do sistema CF-HG não resistiam à alta concentração do HCl. Com esta configuração fez-se a otimização das condições químicas e instrumentais para a determinação simultânea de As, Sb e Se por CF-HG-ICP OES.

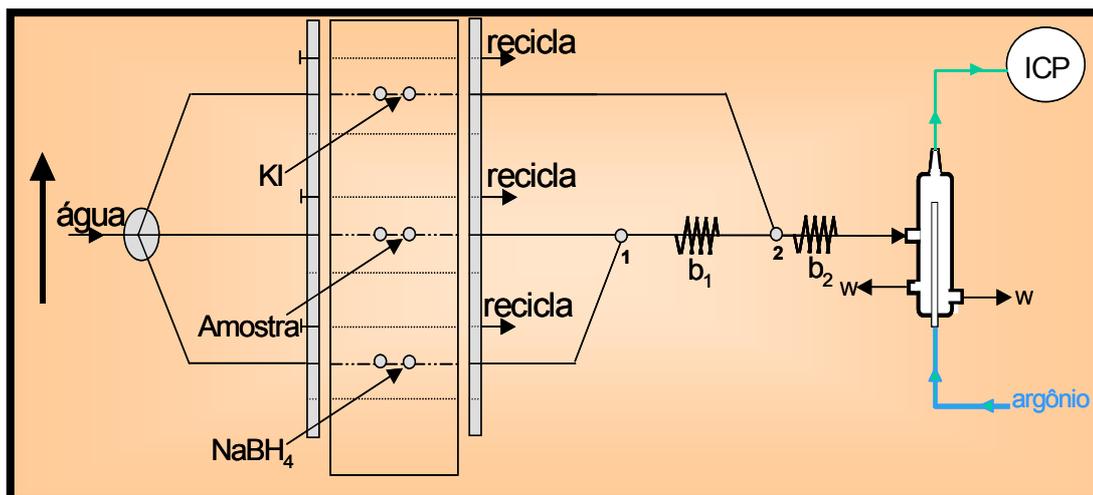


Figura 7. Sistema CF-HG-ICP OES para determinação de As, Sb e Se. Amostra = solução analítica de As, Sb e Se  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  em meio HCl  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ ; solução de  $\text{NaBH}_4 = 1\%$  (m/v); solução de KI =  $8\%$  (m/v). Vazões: Amostra e  $\text{NaBH}_4 = 1,42 \text{ mL min}^{-1}$ ; KI =  $0,88 \text{ mL min}^{-1}$  limpeza (água) =  $6,0 \text{ mL min}^{-1}$ ; descarte =  $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Bobinas de mistura:  $b_1 = 150 \text{ cm}$  e  $b_2 = 50 \text{ cm}$ . Configuração D.

Na Figura 7 pode ser observado que a amostra acidificada, o  $\text{NaBH}_4$  e o KI são bombeados continuamente. Na confluência 1, a amostra acidificada recebe  $\text{NaBH}_4$  e em seguida são misturados em  $b_1$  para que a reação de redução na qual os gases hidretos e  $\text{H}_2$  são gerados se processe. Nesse sistema, o agente pré-reduzidor entra por confluência depois da adição do redutor  $\text{NaBH}_4$  e em seguida ocorre à mistura em  $b_2$  e então a solução líquida e os gases gerados são direcionados ao separador gás-líquido.

Depois que os hidretos começam a ser determinados pelo ICP OES, o injetor-comutador é deslocado para a posição em que os reagentes são reciclados e para a limpeza do percurso analítico.

#### 4.3.1.5. Otimização do tempo de aquecimento e da influência da desgaseificação.

A eficiência de conversão de Se (VI) a Se (IV) para a geração de  $\text{H}_2\text{Se}$ , requer o aquecimento da amostra acidificada, porém seu tempo deve ser otimizado de maneira a evitar perdas de Se por volatilização. Outro fator importante para a completa redução de Se (VI) a Se (IV), é a eliminação de oxidantes fortes (KRIVAN

et al.,1985) remanescentes da decomposição da amostra e da adição de HCl. Uma maneira de eliminar esses oxidantes é borbulhar  $N_2$  na amostra acidificada e aquecida. A Tabela 2 fornece as combinações utilizadas para a otimização do tempo de aquecimento em banho-maria da amostra acidificada e a influência da desgaseificação.

Tabela 2. Combinações utilizadas para a otimização do tempo de aquecimento em banho-maria com temperatura entre 80 e 85°C e desgaseificação para o sistema CF-HG-ICP OES utilizando amostra de marisco.

<b>Amostra</b>	<b>Aquecimento</b>	<b>Desgaseificação</b>
	----- min -----	
<b>A1</b>	90	0
<b>A2</b>	90	2
<b>A3</b>	60	0
<b>A4</b>	60	2
<b>A5</b>	30	0
<b>A6</b>	30	2
<b>A7</b>	15	0
<b>A8</b>	15	2
<b>A9</b>	0	0
<b>A10</b>	0	2

#### 4.3.1.6. Otimização do comprimento das bobinas de reação

Na Figura 7, a bobina  $b_1$ , é responsável pela mistura da amostra acidificada com  $NaBH_4$  e a bobina  $b_2$ , pela mistura de KI com a solução de amostra para redução de As (V) e Sb (V) a As (III) e Sb (III). O comprimento das bobinas de reação do sistema determina o tempo de reação necessário para que todo As, Sb e Se sejam convertidos a seus hidretos antes de serem separados no separador gás-líquido. A Tabela 3 mostra as combinações utilizadas para a otimização do comprimento das bobinas de reação.

Tabela 3. Combinações utilizadas para a otimização do comprimento das bobinas de reação do sistema CF-HG-ICP OES utilizando amostra de marisco.

<b>Amostra</b>	<b>b<sub>1</sub></b>	<b>b<sub>2</sub></b>
	----- cm -----	
<b>A1</b>	50	25
<b>A2</b>	50	50
<b>A3</b>	50	100
<b>A4</b>	150	25
<b>A5</b>	150	50
<b>A6</b>	150	100
<b>A7</b>	200	25
<b>A8</b>	200	50
<b>A9</b>	200	100

#### 4.3.2. Planejamento Experimental

Foram avaliadas as condições experimentais fazendo-se uso de um planejamento fatorial para a otimização das melhores condições químicas (concentração de HCl, NaBH<sub>4</sub> e KI) e instrumentais (altura de observação do plasma, fluxo de nebulização do argônio e potência de R.F. do plasma) para a configuração D do sistema CF-HG-ICP OES.

Utilizou-se um planejamento experimental para a avaliação das melhores condições químicas e instrumentais de geração de hidretos. Uma solução de trabalho de 100 µg L<sup>-1</sup> foi empregada nesta etapa.

Utilizou-se um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> realizando 8 experimentos em triplicata, resultando um total de 24 experimentos. As variáveis avaliadas são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Variáveis avaliadas para as condições químicas utilizando um planejamento fatorial  $2^3$ .

Variáveis	Menor concentração	Maior concentração
HCl	3,0 mol L <sup>-1</sup>	6,0 mol L <sup>-1</sup>
BH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,5%	1,5%
KI	4,0%	8,0%

Após delimitar as condições de trabalho, um refinamento do planejamento experimental foi realizado empregando um planejamento fatorial tipo estrela para as variáveis BH<sub>4</sub><sup>-</sup> e KI o qual pode ser visto através da Tabela 5.

Tabela 5. Planejamento fatorial tipo estrela para as variáveis BH<sub>4</sub><sup>-</sup> e KI.

Variáveis	Concentrações (%)				
BH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,3	0,4	0,7	1,0	1,1
KI	6,3	7,0	8,5	10,0	10,6

Para as condições instrumentais, um novo planejamento fatorial  $2^3$  foi utilizado produzindo 8 experimentos realizados em triplicata resultando um total de 24 experimentos. Os fatores experimentais avaliados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Variáveis avaliadas para as condições instrumentais utilizando um planejamento fatorial  $2^3$ .

<b>Variáveis</b>	<b>Menor</b>	<b>Maior</b>
<b>Potência</b>	1,0 KW	1,3 KW
<b>Vazão</b>	0,5 L min <sup>-1</sup>	1,2 L min <sup>-1</sup>
<b>Altura de observação</b>	8,0 mm	12,0 mm

#### **4.4. AMOSTRAS BIOLÓGICAS E INORGÂNICAS**

Amostras provenientes de pesquisas realizadas na Embrapa Pecuária Sudeste, como carne (contra filé), sangue, vísceras, carcaça e sêmen bovino além de amostras de ração, forrageira, silagem de milho e sal mineral foram utilizadas nesse trabalho. Após coletadas, as amostras foram acondicionadas em frascos plásticos e preservadas em geladeira a 4 °C. A seguir, foram liofilizadas e moídas em moinho criogênico para diminuição do tamanho de partícula, homogeneizadas e acondicionadas em local isento de umidade.

Amostra de marisco adquirido no comércio da cidade de São Carlos também foi empregada.

#### **4.5. PREPARO DAS AMOSTRAS**

##### **4.5.1. Amostra de marisco.**

*4.5.1.1. Procedimento 1: Decomposição das amostras biológicas em forno de microondas Multiwave Anton Paar utilizando frascos de Teflon® modificado (PTFE) para determinação de As e Se por GFAAS (técnica comparativa) e por CF-HG-ICP OES.*

Aproximadamente 200 mg de amostra foram pesados diretamente nos frascos de PTFE. Em seguida, eram adicionadas as seguintes misturas oxidantes:

**Mistura oxidante 1A:** composta de 2,0 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/m);

**Mistura oxidante 1B:** composta de 2,0 mL de  $\text{HNO}_3$  5 mol  $\text{L}^{-1}$  e 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/m).

O  $\text{HNO}_3$  foi utilizado como agente oxidante nos ensaios, devido às suas características em termos de pureza e poder oxidante, juntamente com o peróxido de hidrogênio, um agente oxidante auxiliar.

Após a adição dos reagentes, os frascos foram fechados e aquecidos pelo programa de aquecimento descrito na Tabela 7.

Para a análise em GFAAS, as amostras após digestão eram diluídas com água desionizada para 10 mL.

*4.5.1.2. Procedimento 2: Decomposição da amostra de marisco em forno de microondas Multiwave Anton Paar utilizando frascos de quartzo para a determinação de As, Sb e Se por CF-HG-ICP OES.*

Aproximadamente 200mg de amostra foram pesados diretamente nos frascos de quartzo. Em seguida, eram adicionadas as seguintes misturas oxidantes:

**Mistura oxidante 2 A:** composta de 2,0 mL de  $\text{HNO}_3$  5 mol  $\text{L}^{-1}$  e 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/m).

**Mistura oxidante 2 B:** composta de 3,5 mL de uma solução de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  15% e 0,5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado.

Após a adição dos reagentes, os frascos foram fechados e aquecidos pelo programa de aquecimento descrito na Tabela 7.

*4.5.1.3. Procedimento 3: Decomposição da amostra de marisco em forno de microondas Multiwave Anton Paar utilizando frascos de quartzo e lâmpadas UV para determinação por CF-HG-ICP OES.*

Aproximadamente 200 mg de amostra foram pesadas diretamente nos frascos de quartzo e em seguida eram adicionadas as seguintes misturas oxidantes:

**Mistura oxidante 3 A:** composta de 2,0 mL de  $\text{HNO}_3$  5 mol  $\text{L}^{-1}$  e 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/m).

**Mistura oxidante 3 B:** composta de 3,5 mL de uma solução de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  15% e 0,5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado.

Após a adição dos reagentes, os frascos foram fechados e aquecidos pelo programa de aquecimento descrito na Tabela 7.

#### 4.5.2. Amostras biológicas e inorgânicas – ração, forrageira, silagem de milho, sangue, vísceras, carne, carcaça, sêmen e sal mineral.

Aproximadamente 200 mg de amostra foram pesados diretamente nos frascos de PTFE. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de  $\text{HNO}_3$  5 mol  $\text{L}^{-1}$  (7 mol  $\text{L}^{-1}$  para vísceras) e 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/m) em cada frasco.

Em todos os procedimentos de decomposição de amostras biológicas e inorgânicas, após a adição dos reagentes, os frascos foram fechados e aquecidos pelo programa de aquecimento descrito nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Programa de aquecimento usado no forno com radiação microondas (Multiwave Anton Paar) com frascos fechados de PTFE modificado para as amostras de ração, silagem de milho, forrageira, sangue, carcaça, carne, vísceras, sêmen e sal mineral.

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1	250	2
2	0	3
3	550	4
4	750	5
5	1000	5
6 (vent.)	0	15

Tabela 8. Programa de aquecimento usado no forno com radiação microondas (Multiwave Anton Paar) com frascos fechados de quartzo para a amostra de marisco.

<b>Etapa</b>	<b>Potência (W)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1	350	5
2	0	2
3	250	7
4	1000	15
5	0	15

Após finalizado o programa de decomposição como esquematizado na Figura 8, os frascos eram retirados do carrossel e as amostras transferidas para tubos de polietileno, sendo seus volumes ajustados com água milli-Q para 5 mL. Momentos antes da determinação, eram adicionados às amostras, 5 mL de HCl concentrado, resultando volume final de 10 mL. Dessa forma, a amostra era acidificada em meio de HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup>. As amostras acidificadas eram aquecidas entre 80 e 85°C por 15 min em banho-maria para redução de Se e finalmente desgaseificadas por 2 min através de borbulhamento com N<sub>2</sub> com o intuito de eliminar os NO<sub>x</sub> e Cl<sub>2</sub> remanescentes.

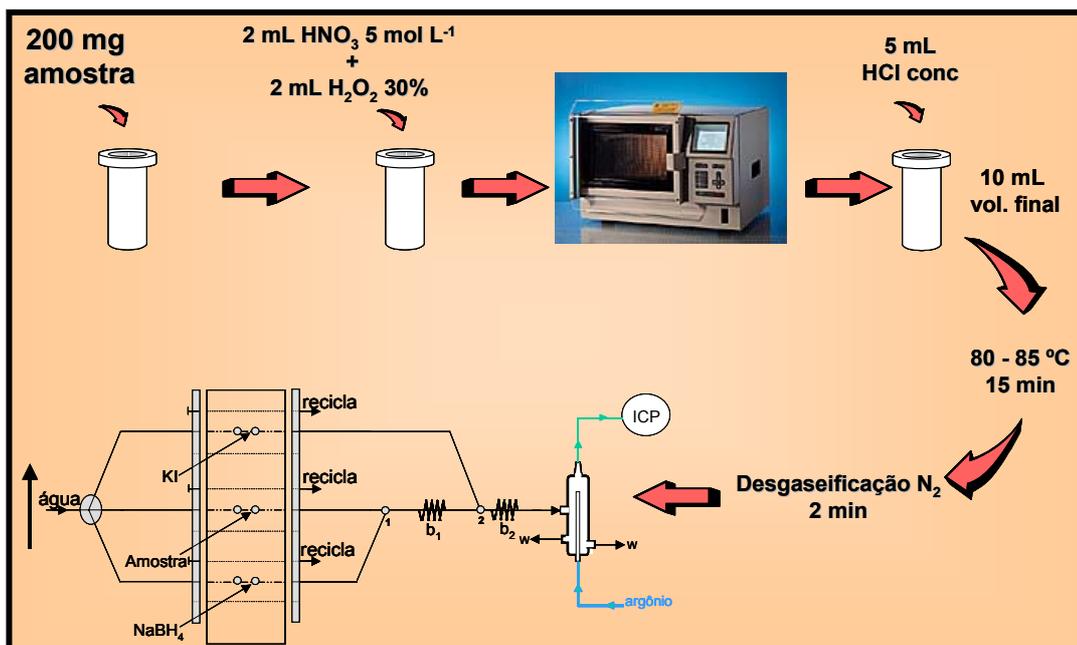


Figura 8. Esquema do preparo de amostras.

## 4.6. DESEMPENHO ANALÍTICO

### 4.6.1. Curva Analítica de Calibração

Como curva analítica de calibração foram utilizadas soluções com valores de concentração de 0 a 120  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se (VI), Sb (V) e As (V). Essas soluções foram preparadas em meio ácido por diluição do padrão estoque 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em meio HCl concentrado para uma acidez final de 6,0 mol  $\text{L}^{-1}$ . Antes das determinações, essas soluções eram submetidas a aquecimento entre 80-85°C em banho-maria por 15 min e em seguida desgasificadas por 2 min com pressão de 60 psi de  $\text{N}_2$ .

### 4.6.2. Validação do método proposto

Os artifícios normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método proposto são: 1°) uso de material de referência certificado, 2°) uso de um outro método de determinação e 3°) realização de testes de adição e recuperação.

Para este trabalho utilizou-se o método de adição e recuperação de analito e o método de análise comparativa, utilizando como técnica de comparação à espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS).

#### 4.6.2.1. *Método de análise comparativo - GFAAS*

A técnica comparativa utilizada como método de referência para a comparação dos resultados obtidos foi a GFAAS. O objetivo foi estudar o grau de proximidade dos resultados obtidos pelos dois métodos, ou seja, de avaliar a exatidão do método proposto relativamente ao de referência.

As análises foram efetuadas em triplicata, utilizando os dois métodos em separado, sobre as mesmas amostras.

#### 4.6.2.2. *Método de adição e recuperação de analito*

O método de adição e recuperação de analito também foi utilizado para a validação do sistema CF-HG-ICP OES, no qual a recuperação do analito é estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo. A limitação desse procedimento é que o analito adicionado nem sempre está na mesma forma que a presente na amostra.

$$\text{Recuperação (\%)} = C1 - C2/C3 \times 100$$

Onde: C1= concentração determinada na amostra adicionada

C2= concentração determinada na amostra não adicionada

C3= concentração adicionada.

No entanto, após a adição dos analitos, procurou-se seguir todos os passos do preparo das amostras de forma a se certificar que não estivesse havendo perdes durante essas etapas.

## ***RESULTADOS E DISCUSSÃO***

---

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CF-HG-ICP OES

#### 5.1.1. Sistema CF-HG – estudos preliminares

##### 5.1.1.1. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Se e Sb por ICP OES - Configuração A.

O primeiro projeto, apresentado na Figura 4 (pág.33) , foi desenvolvido com o intuito de se avaliar o desempenho do separador gás-líquido e o comportamento do sistema proposto antes de qualquer otimização. As condições de trabalho estão apresentadas na Tabela 1 (pág.34) e foram inicialmente fixadas baseando-se na literatura.

Na Figura 9 são apresentadas 5 replicatas dos sinais transientes obtidos com a configuração A do sistema CF-HG. Nota-se que os valores de intensidade para  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de As, Sb e Se foram em torno de 300, 400 e  $600 \text{ c s}^{-1}$  respectivamente. Esses valores foram considerados baixos, mesmo escolhendo as linhas de maior intensidade de emissão. Portanto, a partir deste experimento, algumas variações dos parâmetros previamente fixados foram efetuadas na tentativa de melhorar os sinais de intensidade.

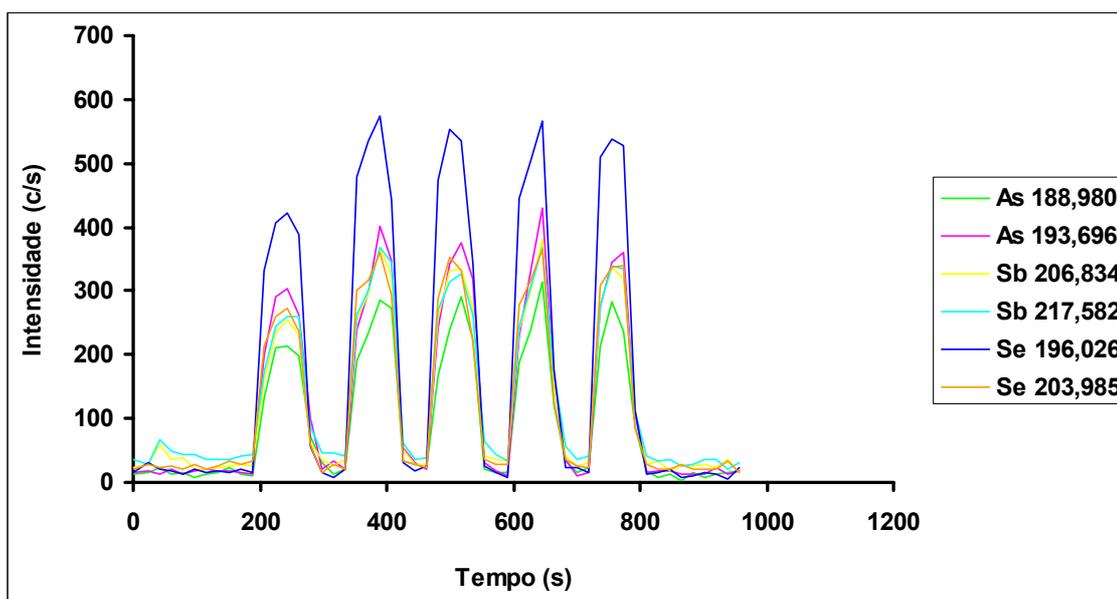


Figura 9. Valores de intensidade referentes à configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  As, Sb e Se por ICP OES com parâmetros fixos (apresentados na Tabela 1).

### **VAZÃO DA AMOSTRA**

Através da Figura 10, é possível visualizar que, com o aumento do fluxo da amostra houve uma melhora de quase três vezes na intensidade dos elementos. Porém, essa mudança apresentou efeito de memória. Mesmo assim, o fluxo de  $4,0 \text{ mL min}^{-1}$ , a princípio, foi escolhido para o sistema.

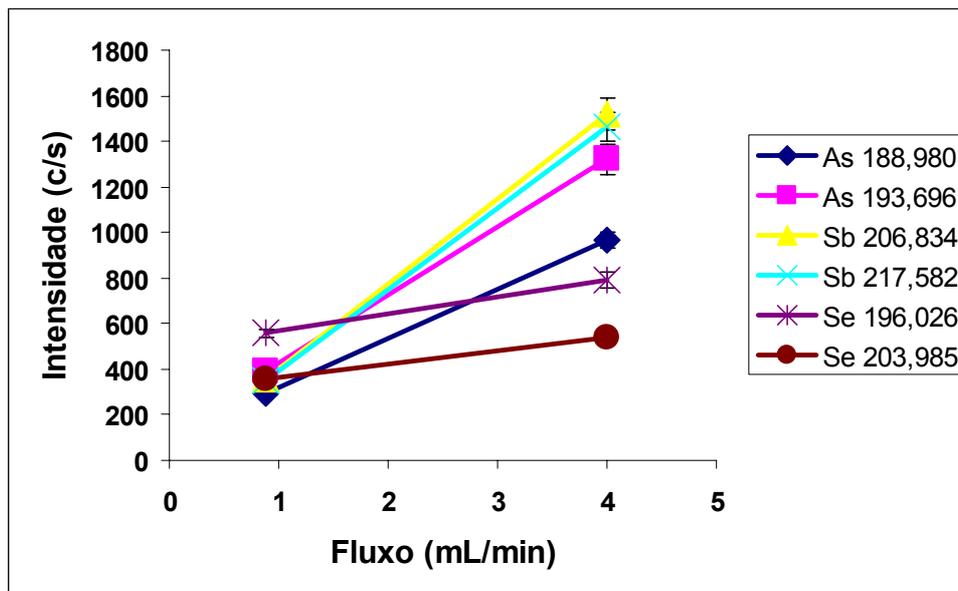


Figura 10. Valores de intensidade referentes ao aumento da vazão da amostra para  $4,0 \text{ mL min}^{-1}$  para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de As, Sb e Se por ICP OES com parâmetros fixos (apresentados na Tabela 1).

### **VAZÃO DE LIMPEZA**

Uma tentativa realizada para eliminar o efeito de memória produzido pelo aumento na vazão da amostra, foi aumentar a vazão de limpeza para  $2,4 \text{ mL min}^{-1}$ , mas mantendo-se fixos os demais parâmetros. Esses resultados estão apresentados na Figura 11, onde se pode notar que as intensidades dos analitos não apresentaram nenhuma diferença em relação à figura anterior, porém o efeito de memória foi eliminado, pois o percurso analítico é limpo mais rapidamente. A vazão de  $2,4 \text{ mL min}^{-1}$  foi a escolhida para a limpeza.

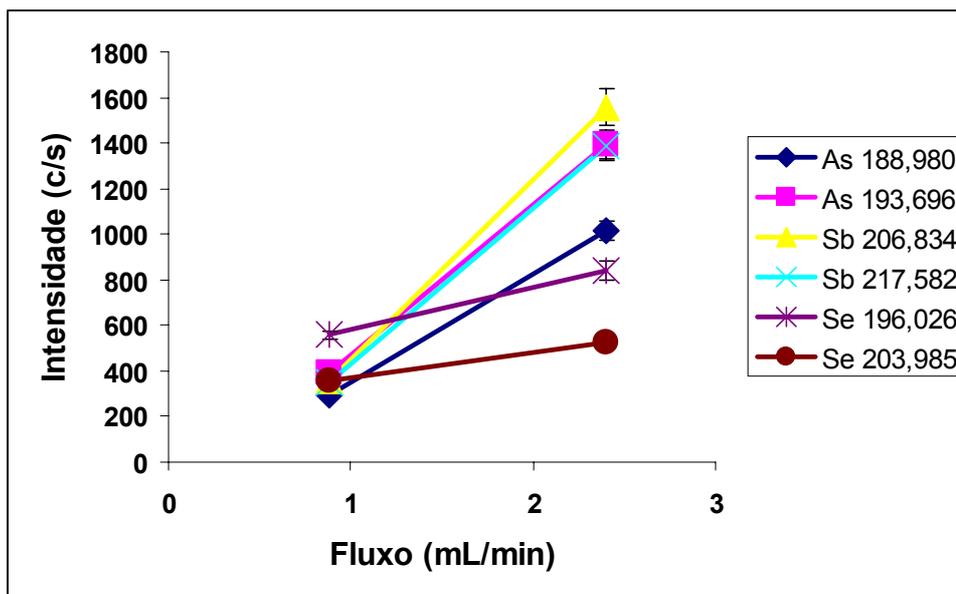


Figura 11. Valores de intensidade referentes ao aumento da vazão de limpeza para  $2,4 \text{ mL min}^{-1}$  para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de As, Sb e Se por ICP OES. (HCl  $6 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $\text{NaBH}_4$  1% (m/v) em  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH; 8,0mm de altura de observação do plasma; 1,2 KW de potência;  $0,9 \text{ L min}^{-1}$  de vazão do gás carregador e vazão de  $4,0 \text{ mL min}^{-1}$  para a amostra).

### **VAZÃO DOS REAGENTES**

Para avaliar o efeito da vazão dos reagentes HCl  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{NaBH}_4$  1% (m/v) em meio NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na geração de hidretos, a vazão de reagentes foi diminuída para  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ , procurando-se uma redução no consumo dos mesmos. Como resultado, percebe-se através da Figura 12 que quando a vazão dos reagentes diminuiu, houve pequena redução das intensidades dos analitos em relação à Figura 11, porém não significativa. Portanto, foi adotada a vazão de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$  para os reagentes.

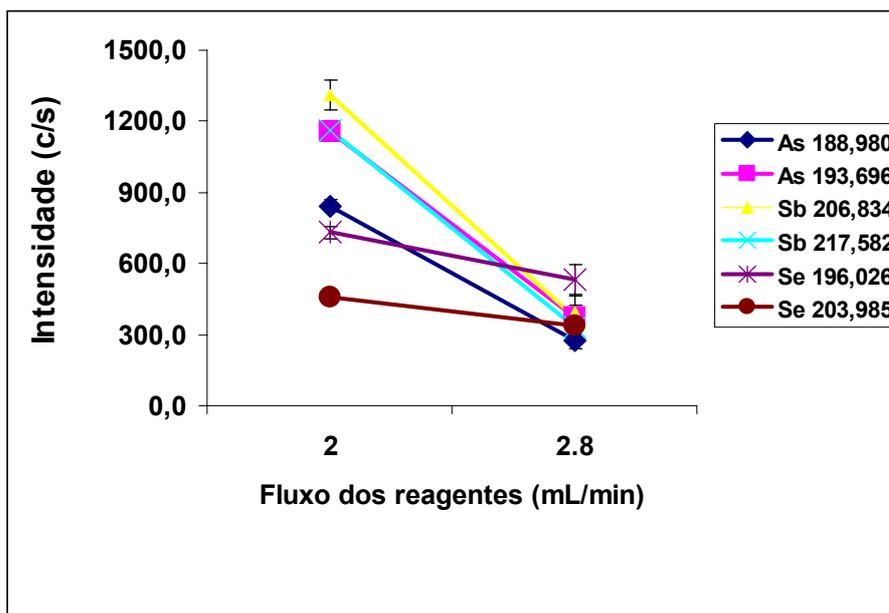


Figura 12. Valores de intensidade referentes à diminuição da vazão dos reagentes para 2,0 mL min<sup>-1</sup> para a configuração A do sistema CF-HG para a determinação simultânea de 100 µg L<sup>-1</sup> de As, Sb e Se por ICP OES. (HCl 6 mol L<sup>-1</sup>; NaBH<sub>4</sub> 1% (m/v) em 0,15 mol L<sup>-1</sup> de NaOH; 8,0mm de altura de observação do plasma; 1,2 KW de potência; 0,9 L min<sup>-1</sup> de vazão do gás carregador e vazão de 4,0 mL min<sup>-1</sup> para a amostra).

#### 5.1.1.2. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração B.

Esta nova configuração apresenta um único canal da bomba peristáltica com vazão de 7,8 mL min<sup>-1</sup> para a limpeza do percurso analítico. As intensidades dos analitos não foram influenciadas por essa modificação.

A partir desse sistema, água é usada como solução de limpeza com vazão de 7,8 mL min<sup>-1</sup>, garantindo uma boa limpeza do percurso analítico. As condições otimizadas para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Condições otimizadas para a determinação simultânea de hidretos de Se, As e Sb por CF-HG-ICP OES para a configuração B testada.

Parâmetros	
Vazão da amostra	4,0 mL min <sup>-1</sup>
Vazão dos reagentes	2,0 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de limpeza	7,8 mL min <sup>-1</sup>

5.1.1.3. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração C.

Na Figura 13 são apresentados os resultados obtidos com o emprego do sistema da Figura 6 (pág.36). Iodeto de potássio foi utilizado como agente pré-reduzidor para As e Sb na concentração de 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Nota-se que não houve diferença significativa nos resultados de intensidade de As e Sb entre os experimentos com KI adicionado após a entrada de NaBH<sub>4</sub> e KI adicionado à amostra 24 h antes da determinação. No entanto, houve a geração de SeH<sub>2</sub> apesar de KI ser adicionado logo após NaBH<sub>4</sub> indicando que Se (VI) não é reduzido a Se (0). Por outro lado, nota-se claramente que não houve a geração de SeH<sub>2</sub>, no procedimento com KI adicionado 24 h antes, o que comprova que KI provoca a redução de Se (IV) a Se (0).

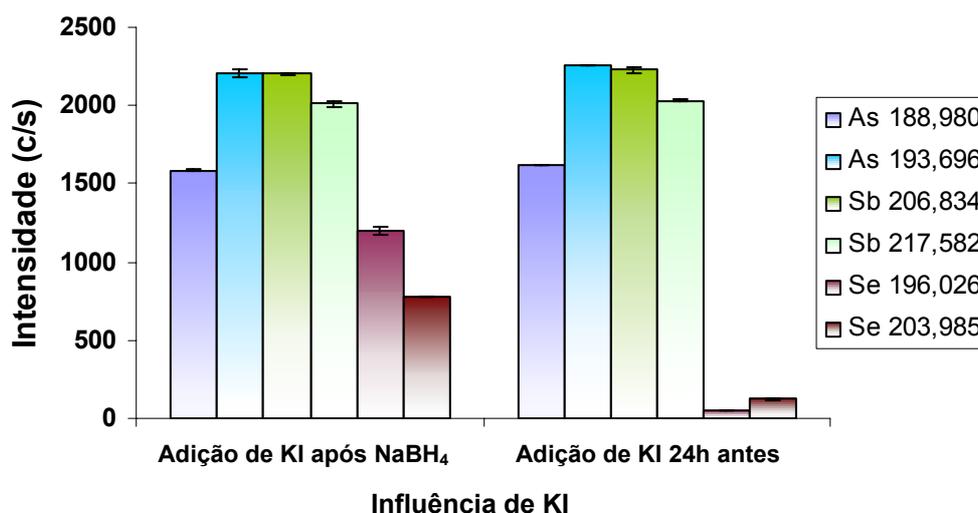


Figura 13. Resultados obtidos com o uso de agente pré-redutor para configuração B do sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES.

#### 5.1.1.4. Sistema CF-HG para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se por ICP OES - Configuração D.

Uma quarta e última configuração do sistema CF-HG com amostragem contínua para a determinação simultânea de As, Sb e Se por ICP OES, apresentado na Figura 7 (pág.37), foi proposta de modo a evitar a adição do ácido em linha, pois as conexões do sistema CF-HG não resistiam à alta concentração do HCl.

A partir desses testes preliminares, foi possível se ter uma idéia do comportamento do sistema. Nota-se que as linhas 193,696, 217,582 e 196,026 nm respectivamente para As, Sb e Se foram as que apresentaram maiores intensidades, que o separador gás-líquido desenvolvido está sendo eficiente na separação e no transporte dos hidretos para o plasma, apresentando pequeno volume morto e que quando os fluxos de amostra e limpeza são aumentados e dos reagentes diminuídos, a intensidade dos analitos é aumentada.

A seguir foi avaliado o comportamento do sistema CF-HG previamente otimizado com uma amostra real, digerida, para verificar se o mesmo comportamento seria obtido. Porém, como a amostra é digerida com HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e devido principalmente à presença de matriz, a determinação foi inviabilizada, pois

naquelas vazões todas as conexões estouravam quando a amostra era misturada com o  $\text{NaBH}_4$ , produzindo uma reação bastante violenta em função da grande pressão gerada no sistema. Devido a esse problema, as vazões de amostra e reagentes tiveram que ser diminuídas o suficiente para que o sistema funcionasse sem problemas e ainda apresentasse bom desempenho. A Tabela 10 mostra a otimização do sistema CF-HG.

Tabela 10. Condições adaptadas do sistema CF-HG para a determinação de As, Sb e Se.

Parâmetros	
Vazão da amostra	1,42 mL min <sup>-1</sup>
Vazão dos reagentes	1,42 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de KI	0,88 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de limpeza	6,0 mL min <sup>-1</sup>
Vazão do descarte	7,0 mL min <sup>-1</sup>

Depois de adaptadas as condições do sistema CF-HG, foi feito um planejamento experimental para a otimização das condições químicas e instrumentais para a determinação simultânea de As, Sb e Se, envolvendo a concentração de HCl, de  $\text{NaBH}_4$  e de KI, altura de observação do plasma, vazão de nebulização do argônio e potência de R.F. do plasma.

### 5.1.2. Planejamento experimental

O planejamento experimental tem como função principal mostrar as influências das variáveis independentes ou suas interações, ou seja, mudanças concomitantes de duas ou mais variáveis que irão influenciar positivamente os resultados. Com a realização de poucos experimentos pode ser possível prever quais serão as melhores condições de trabalho.

### 5.1.2.1. Condições químicas

Através do planejamento fatorial  $2^3$  da Tabela 4 (pág.40) , avaliaram-se as condições químicas para determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se, tais como a concentração de HCl, de  $\text{NaBH}_4$  e de KI.

#### ***Efeito da concentração de HCl, $\text{NaBH}_4$ e KI***

Sabe-se que a reação com  $\text{NaBH}_4$  para produzir hidretos e conseqüentemente  $\text{H}_2$  requer a presença de um ácido. Por isso, nota-se na Figura 14 que a única variável independente com efeito significativo, com intervalo de confiança de 95% para os três analitos, foi a concentração de HCl.

A variável independente  $\text{NaBH}_4$  não se mostrou significativamente importante, mas sua interação com HCl apresentou efeito significativo, pois além de influenciar na eficiência da geração de hidretos também é responsável pela produção de  $\text{H}_2$ , o qual pode causar instabilidade no plasma ou até mesmo sua extinção. Na mesma figura, observa-se que a variável independente KI não apresentou efeito significativo mas sua interação com HCl apresentou-se significativa, mostrando que a concentração de HCl está relacionada com KI para uma eficiente redução de As(V) e Sb(V) a As(III) e Sb(III), sem que Se (VI) seja reduzido a Se(0). A interação  $\text{BH}_4^-$  - KI para Sb mostra-se importante, pois evidencia o compromisso entre a redução de Sb e a geração de  $\text{SbH}_3$ .

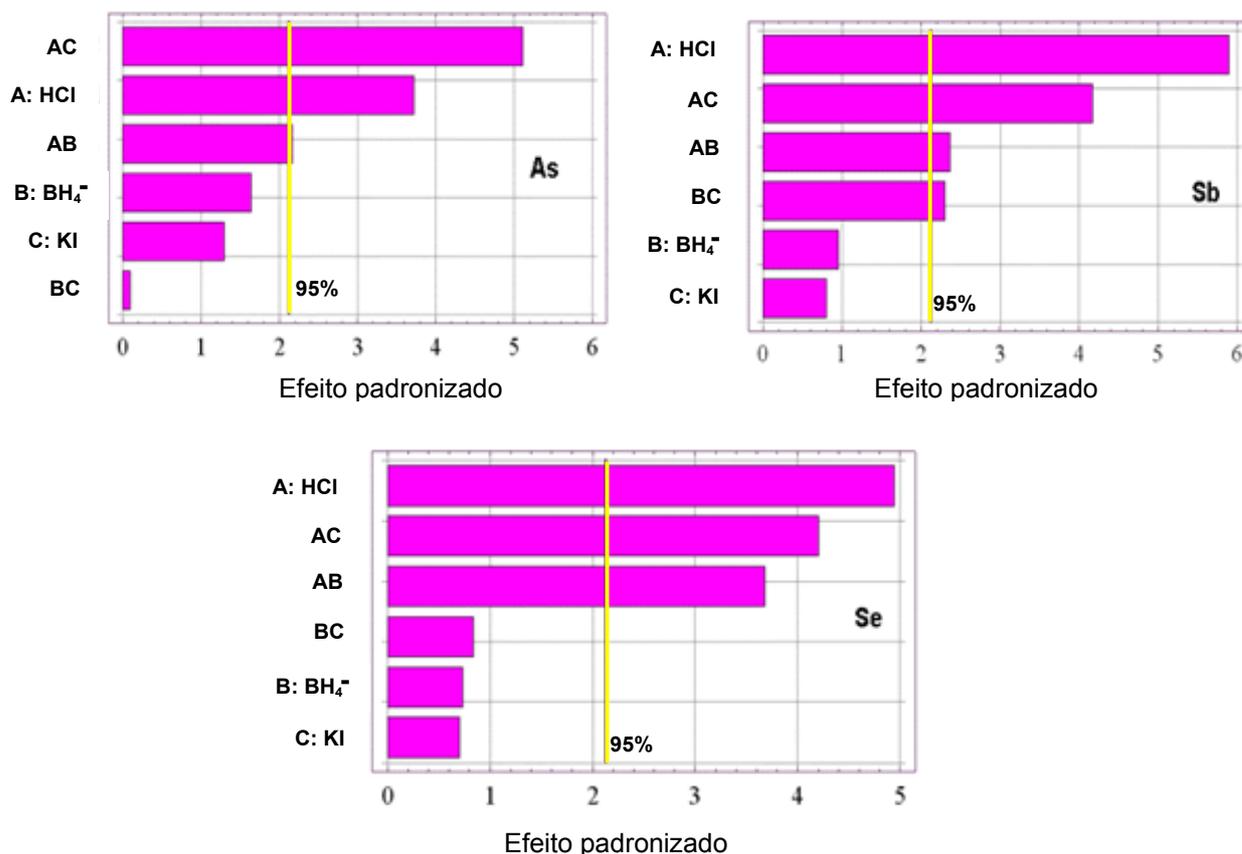


Figura 14. Gráficos de Pareto das condições químicas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

A partir da interpretação do planejamento fatorial, realizou-se uma expansão desse planejamento, empregando uma configuração do tipo estrela, no qual fixou-se a variável HCl em  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ , pois essa foi a máxima condição ácida na qual foi possível trabalhar sem causar nenhum dano ao sistema, variando-se os parâmetros  $\text{BH}_4^-$  e KI, (Tabela 5, pág. 40), a fim de se obter a melhor condição química para a geração simultânea dos hidretos.

Observando-se a Figura 15, nota-se que a concentração de 1,0 % (m/v) de  $\text{BH}_4^-$  produz maiores intensidades para As, Sb e Se. Para altas concentrações de  $\text{BH}_4^-$ , a reação torna-se turbulenta, aumentando a produção de  $\text{H}_2$ . A variação na concentração de KI foi indiferente para As e Se, porém para Sb a maior intensidade obtida foi com concentração de KI na faixa de 7-8,5% (m/v).

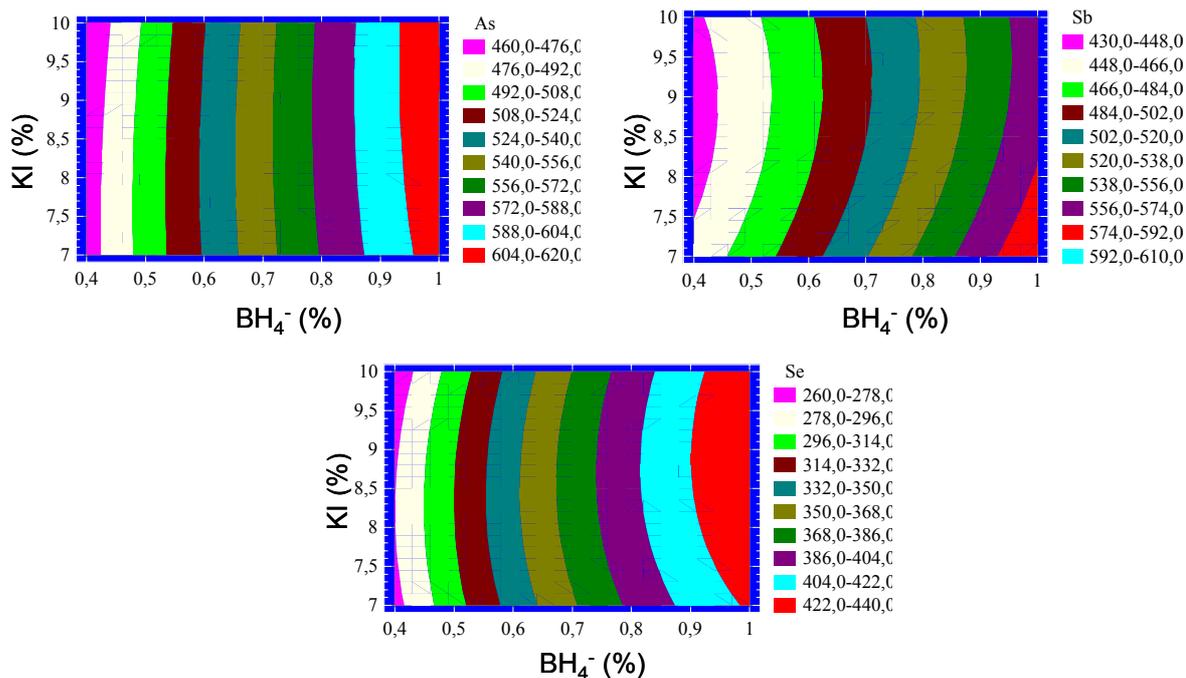


Figura 15. Superfície de resposta do planejamento fatorial do tipo estrela das condições químicas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

Portanto, para manter um compromisso com Sb, as condições químicas assumidas como ótimas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se estão apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11. Condições químicas otimizadas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

Variáveis	Concentração
HCl	6,0 mol L <sup>-1</sup>
NaBH <sub>4</sub>	1,1 % (m/v)
KI	8,3 % (m/v)

### 5.1.2.2. Condições instrumentais

Através do planejamento fatorial  $2^3$  da Tabela 6 (pág. 41), avaliaram-se as condições instrumentais do ICP OES para determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se, tais como a potência de radiofrequência, a vazão de nebulização do argônio (gás carregador) e a altura de observação do plasma.

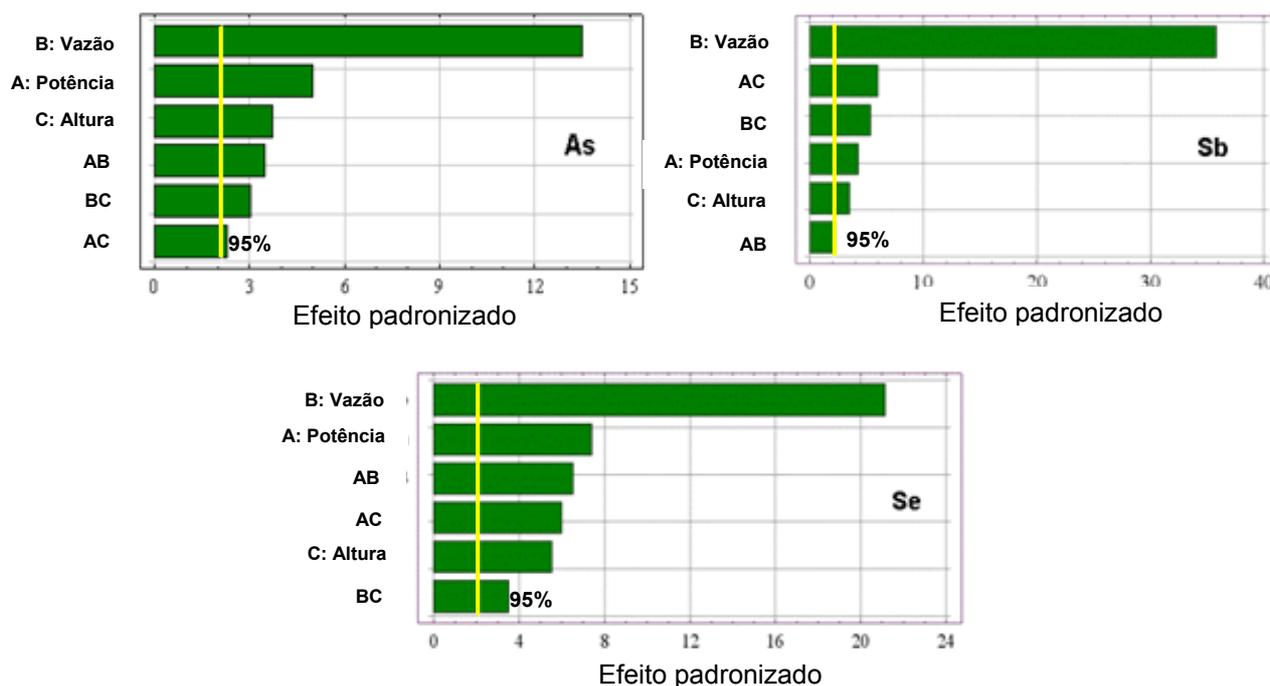


Figura 16. Gráficos de Pareto das condições instrumentais para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

Na Figura 16, com 95% de confiança, as variáveis independentes, potência de radiofrequência do ICP OES, a vazão de nebulização do argônio e a altura de observação do plasma apresentam efeito significativo para os três elementos analisados, bem como suas interações. Isso mostra que o controle dessas variáveis é importante para uma eficiente determinação dos hidretos de As, Sb e Se.

### *5.1.2.3. Efeito da potência de R.F do plasma, altura de observação do plasma e vazão do gás de nebulização (carregador).*

A partir das respostas dos efeitos principais foram obtidas superfícies de respostas para cada um dos elementos analisados (Figura 17).

Como os analitos em estudo têm o primeiro potencial de ionização relativamente alto, eles requerem que o plasma seja mais energético para que a ionização seja mais eficiente. O aumento da potência sobre a intensidade dos analitos a uma vazão constante do gás carregador aumenta a intensidade dos mesmos, com pouca variação em todas as alturas de observação. Portanto, como pode ser visto na Figura 17, a melhor potência de radiofrequência do ICP OES escolhida para todos os analitos foi de 1,3 KW.

Átomos dos analitos com grande potencial de ionização não são excitados em baixas alturas de observação do plasma, mas por outro lado, grandes alturas de observação diminuem a intensidade dos analitos. Portanto a uma altura de observação mediana, de 8 mm, foram obtidas as maiores intensidades.

Hidretos gerados no sistema CF-HG são transportados pelo gás carregador até o plasma, tendo uma forte influência na intensidade dos analitos. Um aumento na vazão do gás leva a um transporte mais eficiente. Por outro lado, o tempo de residência dos átomos no plasma diminui, diminuindo assim a porcentagem de ionização. Além do mais, o gás H<sub>2</sub> pode mudar as características do plasma, incluindo sua capacidade de ionização (tornando-o instável). Considerando essas observações, como mostrado na Figura 17, a melhor vazão do gás de nebulização, escolhida para todos os analitos, foi de 0,6 L min<sup>-1</sup>.

As superfícies de respostas obtidas sugerem que ICP OES atua sob condições robustas, ou seja, aplicando alta potência de R.F. e aumentando o tempo de residência dos analitos no plasma, maiores intensidades são obtidas.

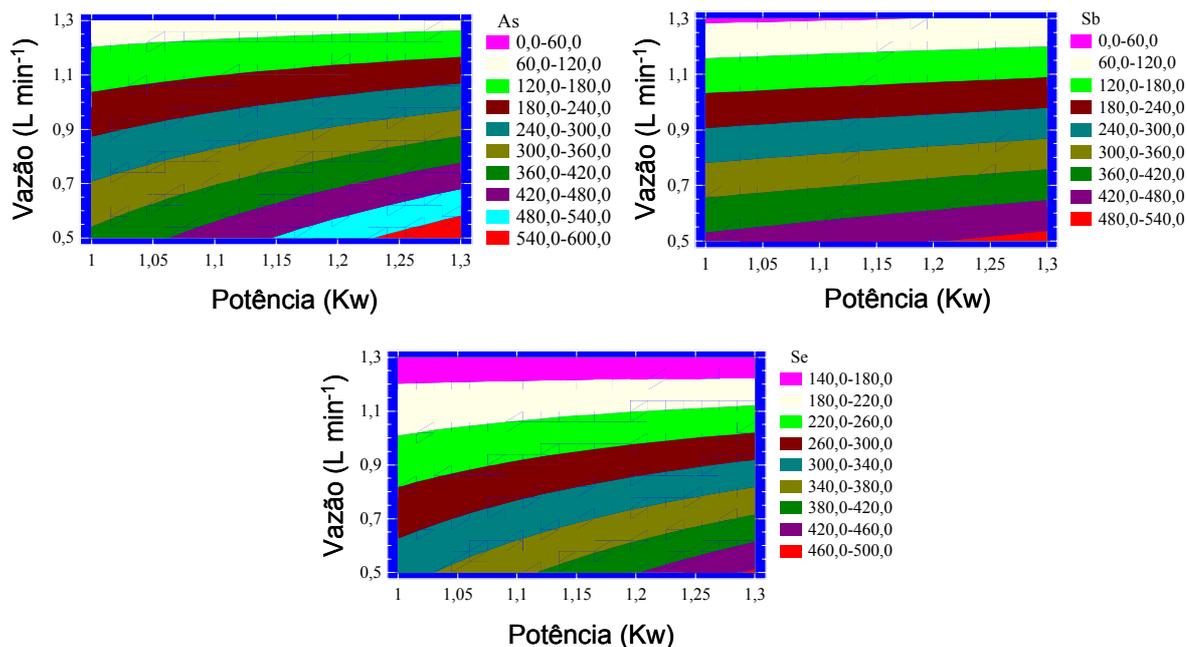


Figura 17. Superfície de resposta bidimensional do planejamento fatorial  $2^3$  para as condições instrumentais para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

As condições instrumentais estabelecidas com base nos resultados discutidos para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se são mostradas na Tabela 12.

Tabela 12. Condições instrumentais otimizadas para a geração simultânea de hidretos de As, Sb e Se.

Variáveis	Condição
Potência R.F.	1,3 KW
Vazão de nebulização	0,6 L min <sup>-1</sup>
Altura de observação	8 mm

## 5.2. PREPARO DE AMOSTRA

Com as condições químicas e instrumentais do sistema CF-HG-ICP OES otimizadas, partiu-se para o estudo do preparo das amostras empregando ácidos diluídos na decomposição.

### 5.2.1. Amostras biológicas

#### 5.2.1.1. Método comparativo - GFAAS

Uma amostra de marisco comercial foi utilizada para a determinação de As e Se utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS) para comparação com o sistema CF-HG-ICP OES proposto.

Antimônio não foi determinado pela técnica GFAAS em função da não disponibilidade da lâmpada.

As Figuras 18 e 19 mostram, respectivamente, o programa de aquecimento desenvolvido para Se em GFAAS e os resultados para Se determinados por GFAAS e CF-HG-ICP OES.

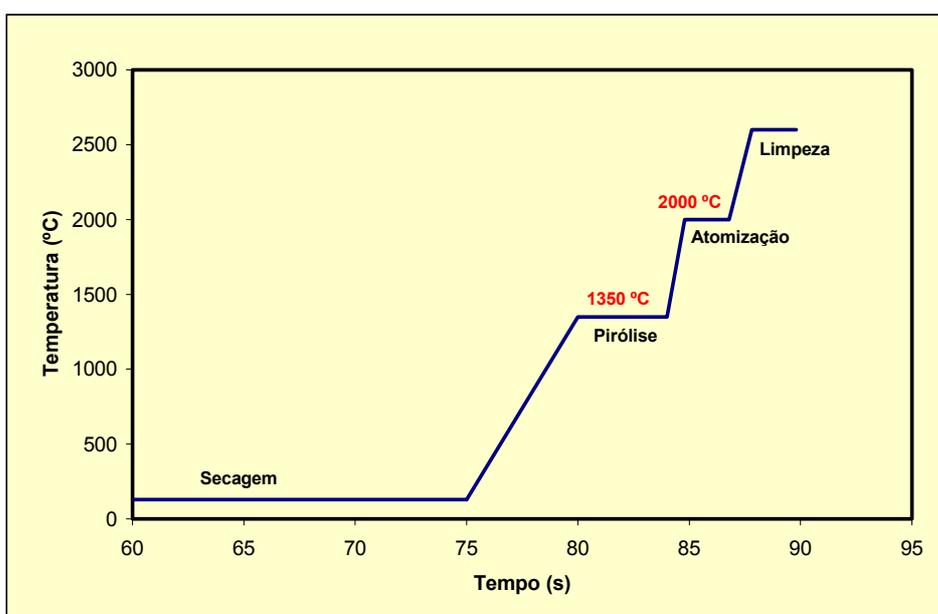


Figura 18. Programa de aquecimento desenvolvido para Se para o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

O programa de aquecimento da Figura 18 foi conduzido de maneira a se determinar as temperaturas ótimas de pirólise e atomização para Se em meio  $\text{HNO}_3$  0,1% (v/v) na presença do modificador químico Pd/Mg (RODRIGUES, 2002), para evitar a perda do analito a baixas temperaturas. Foram introduzidos no tubo de grafite 12  $\mu\text{L}$  de solução estoque de Se 60  $\mu\text{L L}^{-1}$  + 5  $\mu\text{L}$  do modificador químico Pd/Mg 1000  $\text{mL L}^{-1}$ . Todos os resultados foram obtidos empregando a área do pico.

A maior sensibilidade apresentada pela curva de pirólise ocorreu a 1350° C, havendo redução de sinal acima dessa temperatura, indicando perdas por volatilização. O sinal máximo para a temperatura de atomização ocorreu em 2000°C.

É possível notar na Figura 19 que os valores de concentração para Se foram similares, porém com altos desvios, quando determinados por GFAAS. Quando se fez a determinação por CF-HG-ICP OES, a amostra de marisco digerida com  $\text{HNO}_3$  concentrado não apresentou valores de concentração iguais aos determinados por GFAAS, problema esse que pode ser atribuído à interferência causada pelo excesso de ácidos oxidantes na solução de amostra (DEDINA e TSALEV, 1995). No entanto, a amostra digerida com  $\text{HNO}_3$  5  $\text{mol L}^{-1}$  apresentou valor de concentração igual ao determinado em GFAAS, mostrando que o sistema proposto consegue recuperar Se, desde que a digestão da amostra seja feita com ácidos diluídos.

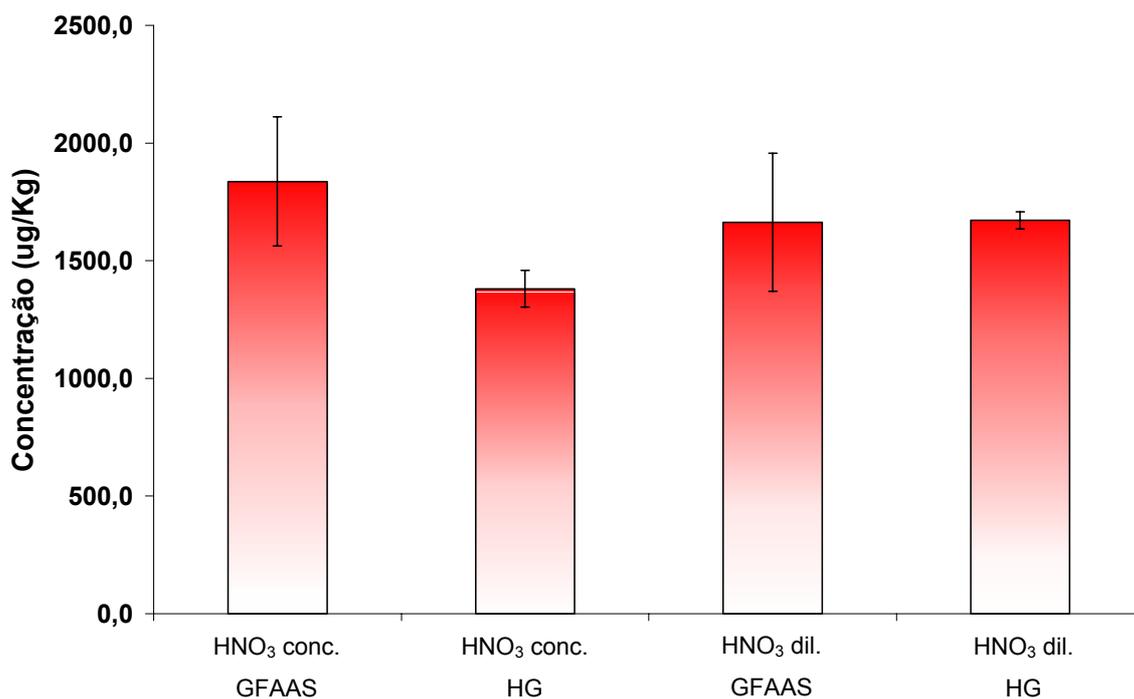


Figura 19. Resultados de Se obtidos com o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) e com o sistema CF-HG-ICP OES.

As Figuras 20 e 21 mostram respectivamente o programa de aquecimento desenvolvido para As em GFAAS e os resultados para As determinados por GFAAS e CF-HG-ICP OES.

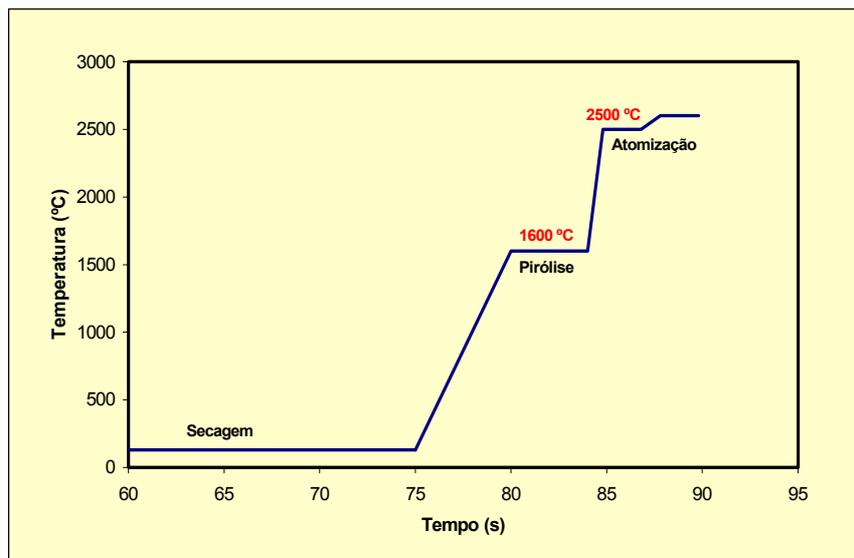


Figura 20. Programa de aquecimento desenvolvido para As para o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

O programa de aquecimento da Figura 20 foi conduzido de maneira a se determinar as temperaturas ótimas de pirólise e atomização para As em meio  $\text{HNO}_3$  0,1% (v/v) na presença do modificador químico Pd/Mg. Foram introduzidos no tubo de grafite 12  $\mu\text{L}$  de solução estoque de As 60  $\mu\text{L L}^{-1}$  + 5  $\mu\text{L}$  do modificador químico Pd/Mg 1000  $\text{mL L}^{-1}$ . Todos os resultados foram obtidos pela área do pico.

A maior sensibilidade apresentada pela curva de pirólise ocorreu a 1600°C, havendo redução de sinal acima dessa temperatura, indicando perdas por volatilização. O sinal máximo para a temperatura de atomização ocorreu em 2500°C.

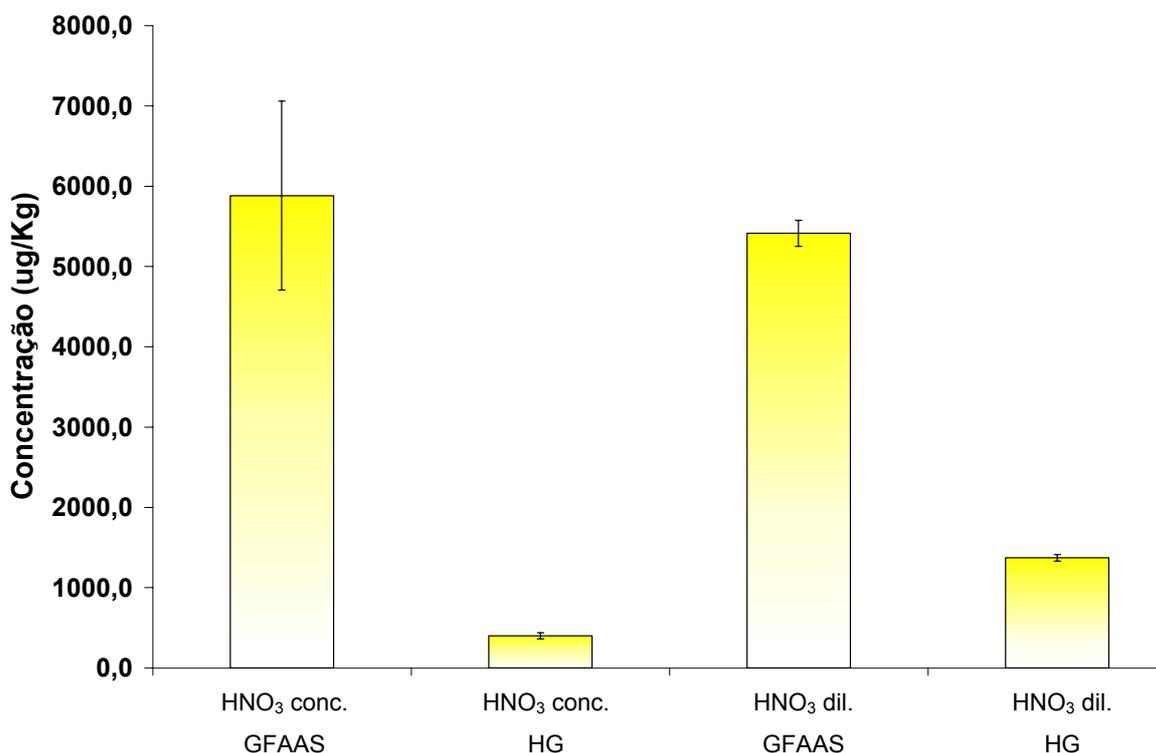


Figura 21. Resultados de As obtidos com o procedimento de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) e com o sistema proposto, CF-HG-ICP OES.

Nota-se na Figura 21, que a amostra de marisco digerida com HNO<sub>3</sub> concentrado e diluído, apresentou valores de concentração similares quando determinados por GFAAS. Porém, para o sistema CF-HG-ICP OES a amostra de marisco digerida com HNO<sub>3</sub> concentrado e diluído apresentaram concentrações muito inferiores aos valores determinados GFAAS, principalmente para a amostra digerida com HNO<sub>3</sub> concentrado, devido ao mesmo problema de interferência causado pelo excesso de ácidos oxidantes na solução de amostra, portanto, não havendo a recuperação do analito.

Esse problema na recuperação de As pode ter sido causado por alguns parâmetros: 1) o comprimento das bobinas de reação, as quais podem implicar na baixa eficiência de redução de As (V) a As (III); 2) o tempo de aquecimento da amostra, que por ser muito longo pode causar perda do analito por volatilização; 3) Cl<sub>2</sub> presente no meio da amostra proveniente do excesso de ácidos oxidantes, o qual pode estar causando a reoxidação do analito e 4) o preparo da amostra, uma

vez que frutos do mar possuem grande quantidade de arsenobetaína, composto de difícil decomposição.

Portanto, a partir dos resultados obtidos para As, foi necessária a otimização do comprimento das bobinas de reação, do tempo de aquecimento, da influência da desgaseificação para eliminar o  $\text{Cl}_2$  presente no meio da amostra e do preparo da amostra de marisco.

### **5.2.2. Otimização do tempo de aquecimento e da influência da desgaseificação**

A Tabela 2 (pág.38) mostra as combinações feitas para a otimização do tempo de aquecimento em banho-maria e desgaseificação da amostra de marisco. A Figura 22 mostra que, a partir de A1, combinação anteriormente usada, todas as combinações feitas utilizando a desgaseificação, mostraram pequeno aumento na concentração de As e grande aumento na concentração de Se, com exceção de A9 e A10, as quais não sofreram aquecimento, evidenciando a necessidade de se aquecer a amostra. Nota-se também que 15 minutos de aquecimento são suficientes para que a pré-redução de Se (VI) a Se (IV) se complete. O tempo de 2 min de borbulhamento com  $\text{N}_2$  foi considerado suficiente para a eliminação dos  $\text{NO}_x$  e  $\text{Cl}_2$  remanescentes. Portanto, 15 min de aquecimento em banho-maria entre 80-85° C e 2 min de desgaseificação foram adotados para o preparo de amostras.

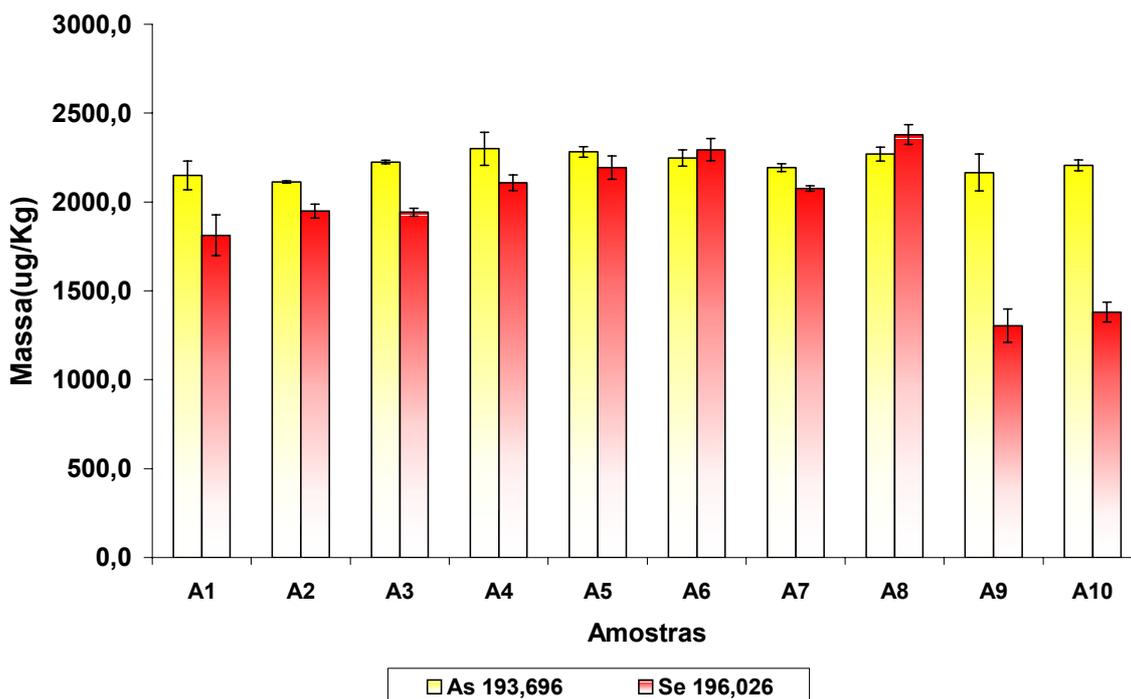


Figura 22. Tempo de aquecimento em banho-maria com temperatura entre 80 - 85°C e desgaseificação da amostra. Aquecimento/desgaseificação (min): A1=90/0; A2=90/2; A3=60/0; A4=60/2; A5=30/0; A6=30/2; A7=15/0; A8=15/2; A9=0/0 e A10=0/2.

### 5.2.3. Otimização do comprimento das bobinas de reação

A Tabela 3 (pág.39) mostra as combinações realizadas para a otimização do comprimento das bobinas de reação.

Como pode ser visto na Figura 23, a partir de A1 a qual, era a combinação de comprimento da bobinas de reação anteriormente usada, todas as outras combinações feitas para b1 e b2 apresentaram aumento nas intensidades de As. As combinações A5, A8 e A9, foram as que apresentaram os melhores resultados, porém A8 e A9 com maiores desvios. Para Se, A5 apresentou-se superior em relação às outras, com exceção de A1 e A7 que se apresentaram pouco superiores, porém com desvios maiores; Portanto, escolheu-se A5 para a nova combinação de comprimento das bobinas de reação do sistema CF-HG-ICP OES.

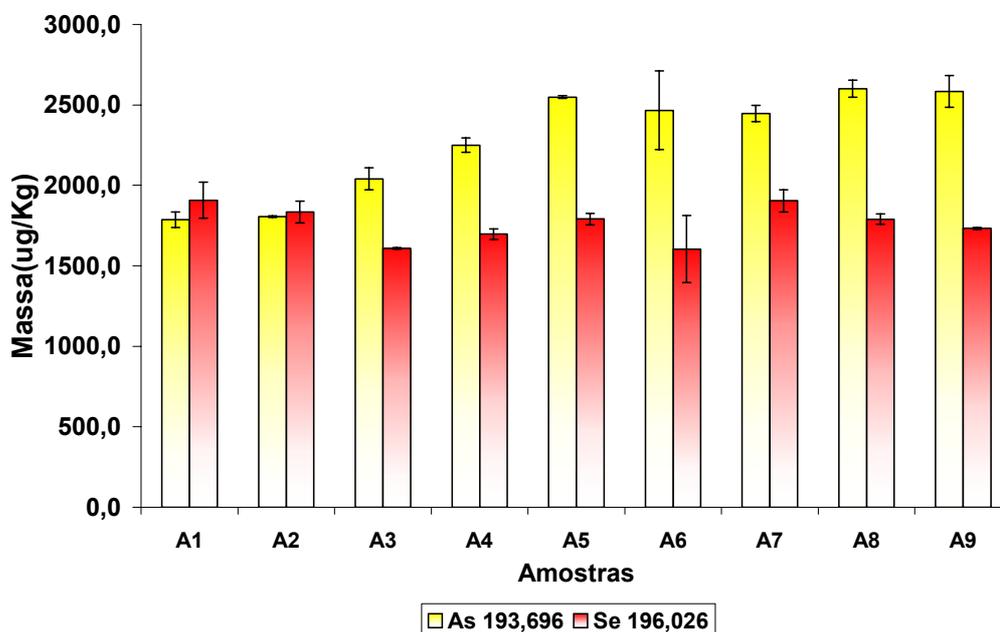


Figura 23. Otimização do comprimento das bobinas de reação.  $b_1/b_2$  (cm): A1=50/25; A2=50/50; A3=50/100; A4=150/25; A5=150/50; A6=150/100; A7=200/25; A8=200/50; A9=200/100.

#### 5.2.4. Otimização do preparo da amostra de marisco

Depois de otimizadas as condições do sistema de análise em fluxo, desenvolveram-se outros 2 procedimentos de preparo de amostra, especificamente para a amostra de marisco, na tentativa de se conseguir melhorar a recuperação de As pelo sistema CF-HG-ICP OES.

De todos os procedimentos de decomposição testados, o procedimento que utilizou frascos de quartzo e lâmpadas UV (procedimento 3A) foi o que mais se aproximou dos resultados obtidos por GFAAS para As, como pode ser observado pela Tabela 13.

Com esses procedimentos desenvolvidos para a amostra de marisco pretendeu-se encontrar aquele que fosse mais adequado aos 2 métodos para a determinação de As, Sb e Se, GFAAS utilizada como técnica comparativa e CF-HG-ICP OES, proposta neste trabalho. No entanto, deve ser observado que a amostra

de marisco não apresenta as características das amostras agronômicas. Portanto, optou-se por fazer as decomposições das amostras agronômicas utilizando o procedimento 1.

Tabela 13. Porcentagem de recuperação de As em amostra de marisco utilizando o método comparativo GFAAS. Os procedimentos estão descritos no item 4.5 (pág.41).

<b>Preparo de amostra</b>	<b>% recuperação</b>
Procedimento 1B	25,3 ± 3,1
Procedimento 2A	59,6 ± 3,7
Procedimento 2B	48,9 ± 2,1
Procedimento 3A	89,6 ± 2,2
Procedimento 3B	75,0 ± 0,9

### **5.3. ESTUDO DE CONCOMITANTES**

As interferências na técnica de geração de hidretos podem ser de natureza espectral ou não-espectral. Interferências espectrais ocorrem quando alguns íons ou átomos emitem radiação em comprimento de onda próximo ao do analito e interferências não-espectrais ocorrem principalmente devido à influência dos constituintes da amostra sobre o sinal do analito. As interferências não-espectrais podem ser classificadas em interferências de fase líquida (presença de oxidantes fortes e efeitos de matriz) e de fase gasosa (geração de vapor de concomitantes) (DEDINA e TSALEV, 1995).

Dessa forma, foi realizado um estudo do nível de interferência de alguns possíveis concomitantes com base nas amostras que se pretendia analisar. Os sinais de intensidades foram medidos em cada solução com possível interferente e comparada com aquela contendo somente o analito. A concentração de As, Sb e Se foi fixada em  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  em meio de HCl  $6 \text{ mol L}^{-1}$  e foram adicionados os possíveis interferentes, Zn, Fe, Mn, Al, Cu e Ni em concentração 10000 vezes

superiores as dos analitos. Os resultados desse estudo podem ser observados pela Figura 24.

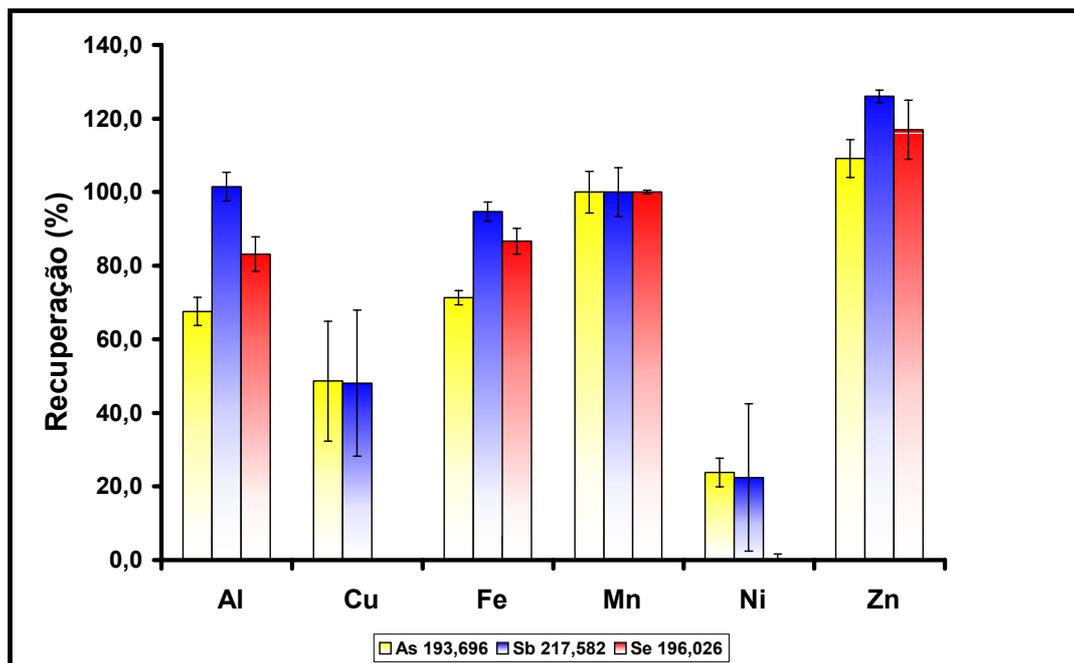


Figura 24. Efeito de concomitantes sobre a determinação de As, Sb e Se.

Como pode ser visto, o sistema CF-HG-ICP OES apresenta problemas de interferência, assim como os demais sistemas de geração de hidretos.

A interferência observada por Al e Cu sobre os analitos As, Sb e Se, possivelmente foi gerada pela fase gasosa, pois esses elementos apresentaram valores de intensidade muito altos.

Não foi observada interferência causada por Mn para nenhum dos analitos determinados.

Zinco foi o único concomitante que apresentou interferência positiva sobre os sinais de intensidade dos analitos As, Sb e Se. Essa interferência pode ser atribuída à presença de contaminantes no padrão utilizado ou a algum efeito causado pelo processo de emissão, uma vez a concentração de Zn é 10000 vezes maior que a dos analitos As, Sb e Se.

A interferência causada pelos demais concomitantes ocorre principalmente na fase líquida, pois há uma competição entre o interferente e o analito no consumo do  $\text{BH}_4^-$  para a geração do hidreto. A interferência mais grave foi observada para Cu e Ni, os quais suprimem significativamente os sinais de As e Sb

e, chegando a causar o desaparecimento do sinal de Se. No entanto, é preciso enfatizar que os valores foram adicionados em excesso para verificação da possível interferência.

As interferências decorrentes da presença de oxidantes fortes como  $\text{NO}_x$  (mesmo com emprego de ácido diluído durante a decomposição da amostra) e  $\text{Cl}_2$  foram observadas e posteriormente eliminadas fazendo-se a desgaseificação das amostras.

#### **5.4. DESEMPENHO ANALÍTICO**

##### **5.4.1. Curva analítica de referência.**

As concentrações de As, Sb e Se nos materiais agronômicos foram obtidas por uma curva analítica de calibração, onde valores conhecidos de As, Sb e Se fornecem valores de intensidade correspondente. A faixa de concentração estudada foi de 0 a  $120 \mu\text{g L}^{-1}$ .

A Figura 25 mostra as curvas analíticas características, em meio aquoso, para As, Sb e Se, mostrando boa linearidade. A curva de calibração foi obtida pela área do pico. As equações obtidas foram,  $y = 3,2198x + 6,4524$ ,  $r^2 = 0,9988$  para As;  $y = 2,1842x + 8,605$ ,  $r^2 = 0,9913$  para Sb e  $y = 4,551x - 3,1174$ ,  $r^2 = 0,9925$  para Se.

O sistema CF-HG-ICP OES apresentou bons resultados, demonstrando ser reprodutivo, com desvios padrão relativos (RSD) menores que 10%, limites de detecção e quantificação apresentados na Tabela 14 e frequência analítica de 30 amostras por hora.

Tabela 14. Limites de detecção e quantificação para As, Sb e Se.

<b>Figuras de mérito</b>	<b>As 193,696</b>	<b>Sb 217,582</b>	<b>Se 196,026</b>
	----- $\mu\text{g L}^{-1}$ -----		
<b>LOD</b>	0,1	0,1	0,1
<b>LOQ</b>	0,3	0,2	0,2

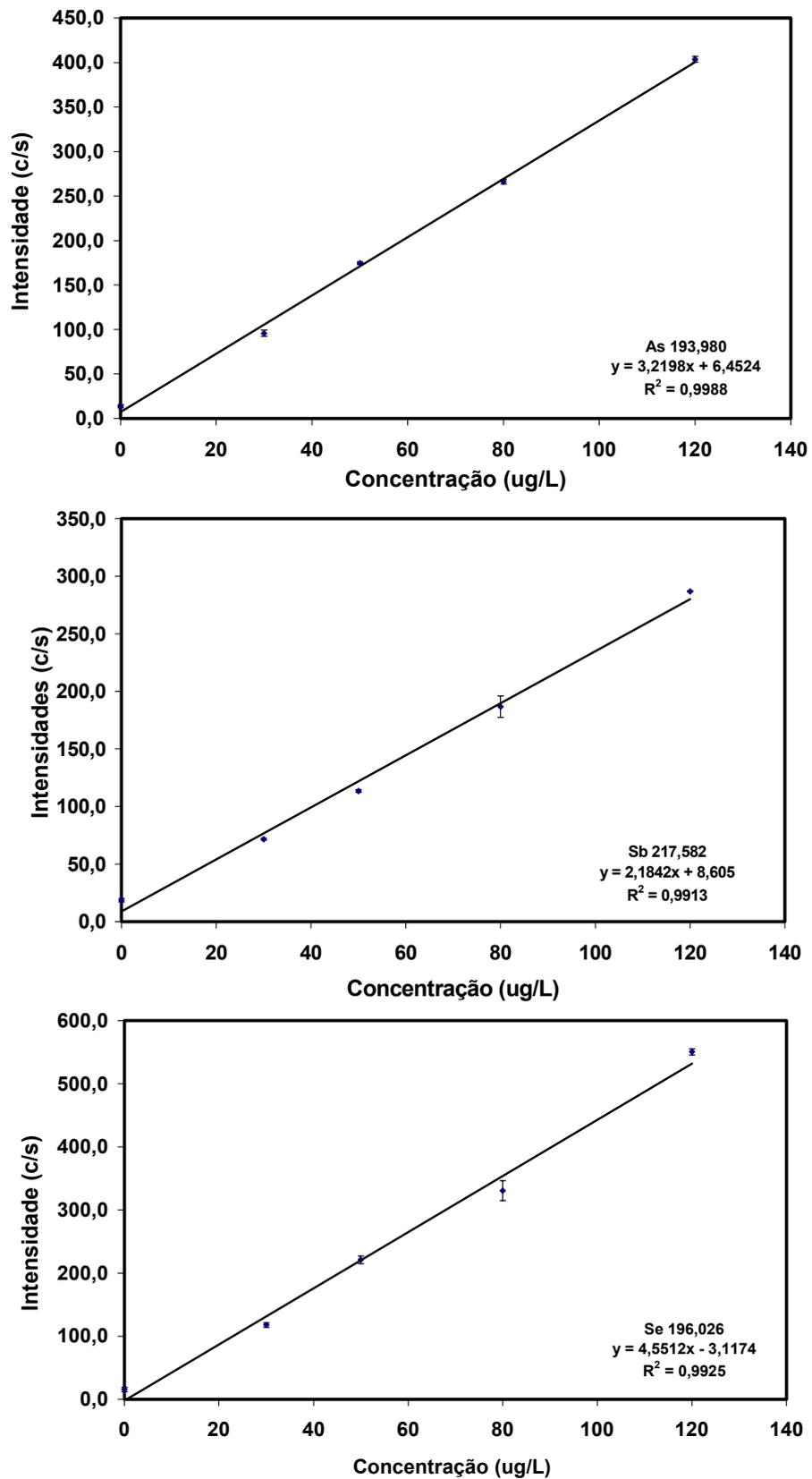


Figura 25. Curvas analíticas características de As, Sb e Se obtidas com o sistema proposto (Figura 7, pág.37).

## 5.5. APLICAÇÃO

O método desenvolvido foi avaliado na determinação de As, Sb e Se em amostras agronômicas de forrageira, ração, silagem de milho, sal mineral, sangue, carcaça, vísceras, carne (contra-filé) e sêmem bovino. Esses constituintes em amostras de carne, sangue e vísceras de bovinos após o abate, podem ser indicadores do desenvolvimento do animal. Em amostras como o sêmem, estes constituintes podem ser indicadores de fertilidade e parâmetros para discriminação de origem ou raça.

As amostras de forrageira, sangue, vísceras e sêmem foram enriquecidas com  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de As, Sb e Se sendo determinadas suas recuperações.

Os resultados das determinações de As, Sb e Se para as amostras são apresentados nas Tabela 15 e 16. Observa-se que todos os valores encontrados foram concordantes com os valores esperados, com exceção de sangue e vísceras, que para Se, apresentaram recuperações de 76,8% e 83,5% respectivamente. Isso provavelmente se deve a problemas de matriz, pois são duas amostras que apresentam altos teores de proteínas e gorduras, as quais podem ter causado interferência na determinação de Se, porém os desvios padrão relativos (RSD) foram menores que 10% para todas as amostras enriquecidas.

Tabela 15. Porcentagem de recuperação (n=4) em amostras agronômicas enriquecidas com  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de As, Sb e Se.

Amostras	As		Sb		Se	
	% R	RSD	% R	RSD	% R	RSD
<b>Forrageira</b>	97,7	1,4	93,9	5,3	112,0	10,0
<b>Sangue</b>	93,8	3,8	86,3	3,8	76,8	7,4
<b>Vísceras</b>	91,6	2,4	93,8	2,8	83,5	3,3
<b>Sêmem</b>	94,6	4,3	94,3	2,5	94,7	3,8

Tabela 16. Concentração de As, Sb e Se em amostras agronômicas (n=3).

Amostras	As		Sb		Se	
	Conc. ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )	RSD	Conc. ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )	RSD	Conc. ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )	RSD
FORAGEIRA	< LD	-	< LD	-	< LD	-
<b>Ração</b>	< LD	-	< LD	-	106,3	16,0
<b>Silagem</b>	< LD	-	< LD	-	28,0	52,9
<b>Sal mineral</b>	2479,0	6,3	< LD	-	43001,7	5,1
<b>Sangue1</b>	< LD	-	< LD	-	436,4	3,9
<b>Sangue2</b>	< LD	-	< LD	-	424,8	6,3
<b>Carcaça1</b>	< LD	-	< LD	-	< LD	-
<b>Carcaça2</b>	< LD	-	< LD	-	< LD	-
<b>Vísceras1</b>	< LD	-	< LD	-	155,6	11,2
<b>Vísceras2</b>	< LD	-	< LD	-	103,6	23,8
<b>Carne1</b>	< LD	-	< LD	-	173,8	11,7
<b>Carne2</b>	< LD	-	< LD	-	183,6	15,1
<b>Sêmen</b>	< LD	-	< LD	-	530,3	10,0

LOD = 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  para As, Sb e Se

A Tabela 15 mostra os valores determinados para As, Sb e Se nas amostras estudadas. Nota-se que em todas as amostras, com exceção de sal mineral, não foi detectado As e Sb. Um teor de 2,479  $\text{mg L}^{-1}$  de As foi detectado em sal mineral, provavelmente de impurezas de suplementos adicionados ao sal.

Com exceção das amostras de carcaça e forrageira, foi detectado Se em todas as demais amostras agronômicas como esperado, uma vez que Se se constitui em um mineral essencial para plantas e animais.

## 6. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS

A Embrapa Pecuária Sudeste possui laboratório de tratamento de resíduos químicos que gerencia e trata os resíduos produzidos na sede e no Grupo de Análise Instrumental Aplicada, GAIA, sendo esse uma parceria Embrapa-UFSCar. Todo o resíduo gerado durante o desenvolvimento deste trabalho foi armazenado em galões plásticos, identificados por etiquetas contendo: responsável, tipo de resíduo, característica do resíduo, cuidados a tomar e o diagrama de perigo (diagrama de Hommel).

O diagrama de Hommel utiliza cores para indicar se a substância é reativa (amarelo), inflamável (vermelho) ou tóxica (azul), e números de 0 - 4 para indicar o grau de atividade, sendo 0 pouco reativo (estável) e 4 muito reativo (tóxico ou facilmente inflamável). A maior parte dos resíduos gerados no desenvolvimento deste trabalho utilizou o rotulo apresentado na Figura 26, pois possui características oxidantes (oxy), sendo que o contato com a pele ou inalação deve ser evitado (3), necessitando do uso de equipamento de proteção individual (epi).

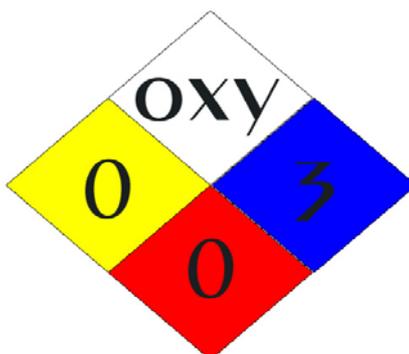


Figura 26. Diagrama de Hommel para resíduos de decomposição ácida.

Este resíduo foi neutralizado utilizando um outro resíduo com características básicas (NaOH), proveniente do sistema de destilação de nitrogênio Kjeldahl, do Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pecuária Sudeste. Monitorando o pH do resíduo, a solução básica foi adicionada gradualmente até atingir o pH 7. Não sendo observada a formação de precipitados, a solução obtida foi descartada na pia após uma determinação da presença metais pesados, inflamabilidade e caráter oxidante/redutor.

## **CONCLUSÃO**

---

## 7. CONCLUSÃO

O separador gás-líquido desenvolvido constituiu uma alternativa viável para a determinação simultânea de hidretos de As, Sb e Se em sistema de análise em fluxo, apresentando excelente drenagem.

A utilização do planejamento experimental tornou possível encontrar as melhores condições químicas e instrumentais para a geração simultânea dos hidretos, com menor tempo de análises e menor consumo de reagentes.

A introdução da solução de KI depois da adição de  $\text{NaBH}_4$  evita que Se (IV) seja reduzido a Se (0) e reduz com sucesso As(V) e Sb(V) a As (III) e Sb (III).

O aquecimento da amostra digerida depois da adição de HCl é necessário para que a redução de Se se complete e o tempo de aquecimento requerido pode ser reduzido sem nenhum problema.

A etapa de desgaseificação é importante para a eliminação dos  $\text{NO}_x$  e  $\text{Cl}_2$ , minimizando assim interferências geradas por oxidantes fortes.

Estudos de interferência mostraram que o sistema é suscetível á interferências de fase gasosa e de fase líquida.

O preparo da amostra foi o maior problema para a determinação de As, devido à dificuldade de decomposição do composto arsenobetaína, porém procedimentos que empregam a utilização conjunta da radiação ultravioleta e microondas se mostram eficientes.

Para as amostras de sangue e vísceras, Se e Sb apresentaram as piores recuperações devido a interferências de matriz, porém esse problema pode ser contornado fazendo-se uso de ácidos mais concentrados durante a etapa do preparo da amostra.

Os resultados das análises para materiais agronômicos apresentaram boa exatidão, precisão e recuperação com baixos LOD para as determinações de As, Sb e Se.

O sistema poderá vir a ser empregado com sucesso em procedimentos de rotina em laboratórios de análise de traços.

## ***REFERÊNCIAS***

---

## 8. REFERÊNCIAS

- ABRANKÓ, L.; STEFANKA, Z. & AND FODOR, P. "Possibilities and limits of the simultaneous determination of As, Bi, Ge, Sb, Se, and Sn by flow injection-hydride generation-inductively coupled plasma-time-of-flight mass spectrometry (FI-HG-ICP-TOFMS)". *Anal. Chim. Acta*, **493**: 13, 2003.
- ADKINS, R.L., WALSH, N., EDMUNDS, M. & TRAFFORD, J.M., "Inductively coupled plasma atomic emission spectrometric analysis of low levels of selenium in natural waters". *Analyst*, **120**: 1433, 1995.
- ALLAIN, P., JAUNAUULT, L., MAURAS, Y, MERMET, J. M. & DELAPORTE, T., "Signal enhancement of elements due to the presence of carbon-containing compounds in inductively coupled plasma mass-spectrometry", *Anal. Chem.*, **63**: 1497, 1991.
- ANDREAE, M. O. "Determination of arsenic species in natural-waters". *Anal. Chem.*, **49**: 820, 1977.
- ANDREAE, M. O., ASMODE, J. F, FOSTER, P. & VANTDACK, L. "Determination of antimony (III), antimony (V), and methylantimony species in natural-waters by atomic-absorption spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.*, **53**: 1766, 1981.
- ARAÚJO, G. C. L., GONZALEZ, M.H., FERREIRA, A.G., NOGUEIRA, A.R.A. & NÓBREGA, J.A. "Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plants materials". *Spectrochim. Acta Part B*, **57**: 2121, 2002.
- ATKINS, P. W. "*Physical Chemistry*". 5a ed. Oxford, Oxford University Press, Inglaterra, 1994.
- BECKER, K., GROMER, S., SCHIRMER, R. H., & MULLER, S. "Thioredoxin reductase as a pathophysiological factor and drug target". *Eur. J. Biochem.*, **267**:6118, 2000.

- BOWMAN, J.; FAIRMAN, B., & CATTERICK, T. "Development of a multi element hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry procedure for the simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium in waters". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2**: 313, 1997
- BRAMAN, R.S. & FOREBACK, C.C., "Methylated forms of arsenic in environment", *Science*, **182**: 1247, 1973.
- BRUNORI, C., CALLE-GUNTIÑAS, M.B. & MORABITO, R. "Optimization of the reduction of Se (VI) to Se (IV) in a microwave oven". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **360**: 26, 1998.
- BRYCE, D. W., IZQUIERDO, A. & CASTRO, L. "Speciation of inorganic selenium using flow injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**: 1059, 1995.
- BURGUERA, J.L. "*Flow injection atomic spectroscopy*", New York. 1989, 7, 2-17
- CADORE, S. & BACCAN, N., "Continuous hydride generation system for the determination of trace amounts of bismuth in metallurgical materials by atomic absorption spectrometry using an on-line stripping-type generator/gas-liquid separator", *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**: 637, 1997.
- CARRERO, P., MALAVÉ, A., BURGUERA, J.L., BURGUERA, M. & RONDÓN, C., "Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines", *Anal. Chim. Acta*, **438**: 195, 2001.
- CARRILHO, E. N. V. M., NOGUEIRA, A. R. A., NÓBREGA, J. A., SOUZA, G. B. & CRUZ, G.M. "An attempt to correlate fat and protein content of biological samples with residual carbon after microwave-assisted digestion". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **371**: 536, 2001.

- CARRIÓN, N., MURILLO, M. MONTIEL, E. & DIAZ, D. "Development of a direct hydride generation nebulizer for the determination of selenium by inductively coupled plasma optical emission spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **58**: 1375, 2003.
- CAVA-MONTESINOS P., CERVERA, M. L., PASTOR, A. & GUARDIA, M. "Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratraces of selenium and tellurium in cow milk". *Anal. Chim. Acta*, **481**: 291, 2003.
- CAVA-MONTESINOS, P., CERVERA, M. L., PASTOR, A. GUARDIA, M. "Determination of As, Sb, Se, Te and Bi in milk by slurry sampling hydride generation atomic fluorescence spectrometry". *Talanta*, **62**: 175, 2004.
- CHANVAIVIT, S. & BRINDLE, I.D., "Matrix independent determination of hydride-forming elements in steels by hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**: 1015, 2000.
- CHOW, P.Y.T., CHUA, T.H. & OW, B.Y., "Diluted-acid digestion procedure for the determination of lead, copper and mercury in traditional Chinese medicines by atomic absorption". *Analyst*, **120**: 1221, 1995.
- COELHO, N.M.M., SILVA, A.C. & SILVA, C.M., "Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **460**: 227, 2002.
- D'ULIVO, A. "Studies on the determination of selenium by hydride generation non-dispersive atomic fluorescence spectrometry using hydrobromic acid-based reaction matrices". *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**: 67, 1989.
- DEDINA, J. & TSALEV, D. L. 1<sup>st</sup> edição. "Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry". Wiley, Chichester, Inglaterra, 1995.

- DELACALLEGUNTINAS, M. B., MADRID, Y. & CAMARA, C., "Determination of total available antimony in marine sediments by slurry formation hydride generation atomic-absorption spectrometry – applicability to the selective determination of antimony (III) and antimony (V)". *Analyst*, **116**: 1029, 1991.
- DIPLOCK, A. T. "Trace elements in human health with special reference to selenium". *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**: 1313, 1987.
- DUGENEST, S., OLLE, M., RIBES, A. & GRENIER-LOUSTALOT, M.F., "Chemical characterization of municipal solid waste incineration residue. dissolution of elements with microwave-diluted acid digestion technique compared to conventional methods". *Analyst* **26**: 256, 1998.
- EK, P., HULDEN, S. G. & IVASKA, A. "Sequential injection-analysis system for the determination of hydride-forming elements by direct-current plasma atomic emission-spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**: 121, 1995.
- FEATHERSTONE, A. M., TOWNSEND, A. T., JACOBSON, G. A. & PETERSON, G. M. "Comparison of methods for the determination of total selenium in plasma by magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **512**, 319, 2004.
- FENG, Y.I. & CAO, J.P., "Simultaneous determination of arsenic(V) and arsenic(III) in water by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using reduction of arsenic(V) by *L-cysteine* and a small co-centric hydride generator without a gas-liquid separator", *Anal. Chim. Acta*, **293**: 211, 1994.
- FENG, Y. L.; HISATAKE, N. CHEN, H. W.; & TIAN, L. C. "Semi-automatic determination of tin in marine materials by continuous flow hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **357**: 822, 1997.

- FENG, Y. L.; CHEN, H. W.; CHEN, H. Y., & TIAN, L. C. "Sequential determination of tin, arsenic, bismuth and antimony in marine sediment material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a small concentric hydride generator and *L-cysteine* as prereductant". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **361**: 155, 1998a.
- FENG, Y. L.; CHEN, H. Y.; TIAN, L. C., & NARASAKI, H. *Off-Line* "Separation and determination of inorganic arsenic species in natural water by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry with hydride generation combined with reaction of arsenic (V) and *L-cysteine*". *Anal. Chim. Acta*, **375**: 167, 1998b
- FLORES, E.M.M., SILVA, L.L.C., BARIM, J.S., SAIDELLES, A.P.F., ZANELLA, R., DRESSLER, V.L. & PANIZ, J.N.G., "Minimization of volatile nitrogen oxides interference in the determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **56**: 1883, 2001.
- FOSTER, L.H. & SUMAR, S., "Selenium concentrations in soya based milks and infant formulae available in the United Kingdom". *Food Chem.*, **56**: 93, 1996.
- GALLIGNANI, M., VALERO, M., BRUNETTO, M.R., BURGUERA, J.L., BURGUERA, M. & PEÑA, Y.P., "Sequential determination of Se (IV) and Se (VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se (VI) to Se (IV)". *Talanta*, **52**: 1015, 2000.
- GARCÍA, M. A. RODRÍGUES, M. C. P., URÍA, J. E. S. & SANZ-MEDEL, A. "Sb (III) and Sb (V) separation and analytical speciation by a continuous tandem on-line separation device in connection with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **353**: 128, 1995.
- GONG, Z., CHAN, W.F., WANG, X. & LEE, F.S.-C. "Determination of arsenic and antimony by microwave plasma atomic spectrometry coupled with hydride generation and a PTFE membrane separator". *Anal. Chim. Acta*, **450**: 207, 2001.

- GOULDEN, P. D., ANTHONY, D. H. J. & AUSTEN, K. D. "Determination of arsenic and selenium in water, fish, and sediments by inductively coupled plasma emission spectrometry". *Anal. Chem.*, **53**: 2027, 1981.
- HALICZ, L. & RUSSELL, G. M. "Simultaneous determination, by hydride generation and inductively coupled plasma atomic emission-spectrometry, of arsenic, antimony, selenium and tellurium in silicate rocks containing the noble-metals and in sulfide ores". *Analyst*, **111**: 15, 1986.
- HANSEN, J. C., & DEGUCHI, Y. "Selenium and fertility in animals and man- A review". *Acta Vet. Scandinavia*, **37**: 19, 1996.
- HAYGARTH, P. M., ROWLAND, A. P., STURUP, S. & JONES, K. C. "Comparison of instrumental methods for the determination of total selenium in environmental samples". *Analyst*, **118**: 1303, 1993.
- HILL, S. J., PITTS, L. & WORSFOLD, P. "Investigation into the kinetics of selenium (VI) reduction using hydride generation atomic fluorescence detection". *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**: 409, 1995.
- HUEBER, D.M. & WINEFORDNER, J.D., "A flowing electrolytic hydride generator for continuous simple introduction in atomic spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **316**: 129, 1995.
- JAMOUSSE, B., ZAFZOUF, M. & HASSINE, B. B. "Interferences by transition metals and their elimination by cyanide as a complexing agent in the determination of arsenic using continuous flow HG-ICP-AES". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **356**: 331, 1996.
- KARTHIKEYAN, S., RAO, T. P. & IYER, C. S. P. "Determination of arsenic in sea water by sorbent extraction with hydride generation atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **49**: 523, 1999.

- KINGSTON, H. M. S. & HASWELL, S. J., “*Microwave-enhanced chemistry – Fundamentals, sample preparation and applications*”, American Chemical Society, Washington DC, USA, 1997.
- KLAPEC, T., MANDIC, M. L., GRGIC, J., PRIMORAC, Lj., PERL, A. & KRSTANOVIC, V. “Selenium in selected foods grown or purchased in eastern Croatia”. *Food Chem.*, **85**: 445, 2004.
- KNAPP, G., MAICHIN, B. & BAUMGARTER, U., “Interferences in ICP-OES by organic residue after microwave-assisted sample digestion”. *At. Spectrosc.*, **19**: 220, 1998.
- KOHRLE, J., BRIGELIUS-FLORE, R., BOCK, A., GARTNER, R., MEYER, O. & FLOHE, L. “Selenium in biology: facts and medicinal perspectives”. *Biol. Chem.*, **381**: 849, 2000.
- KOS, V., VEBER, M. & HUDNIK, V. “Determination of selenium in soil by hydride generation AAS”. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **360**: 225, 1998.
- KRACHLER, M., BUROW, M., EMONS, H. “Optimized procedure for the determination of antimony in lipid-rich environmental matrices by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry”. *Analyst*, **124**: 923, 1999.
- KRACHLER, M., EMONS, H. BARBANTE, C., COZZI, G., CESCO, P. & SHOTYK, W. “Inter-method comparison for the determination of antimony and arsenic in peat samples”. *Anal. Chim. Acta*, **458**: 387, 2002.
- KRIVAN, V., PETRICK, K., WELZ, B. & MELCHER, M. “Radiotracer error-diagnostic investigation of selenium determination by hydride – generation atomic absorption spectrometry involving treatment with hydrogen peroxide and hydrochloric acid”. *Anal. Chem.*, **57**: 1703, 1985.
- KRUG, F. J., BERGAMIN F°, H., ZAGATTO, E. A. “Commutation in Flow Injection Analysis”. *Anal. Chim. Acta.*, **179**: 103, 1986.

KRUG, F.J., 3º *Workshop sobre preparo de amostra*, São Carlos-SP, 2000.

LAFUENTE, J.M.G., SÁNCHEZ, M.L.F., MARCHANTE-GAYÓN, J.M., URÍA, J.E.S., SANZ-MEDEL, A., “On-line focused microwave digestion-hydride generation of inorganic and organic selenium: total determination and inorganic selenium speciation by atomic absorption spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*, **51**, 1849, 1996.

LAKOTA, V. N.; MAKAREVICH, V. I.; ARKHUTIK, S. S.; KOLOMIETS, N. D., & MUROKH, V. I. “Determination of arsenic, mercury, and selenium by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry”. *J. Anal. Chem.*, **54**: 251, 1999.

LAMBERT, D. F., & TUROCZY, N. J. “Comparison of digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by cathodic stripping voltammetry”. *Anal. Chem. Acta*, **408**: 97, 2000.

LAMBLE, K. J. & HILL, S. J. “Arsenic speciation in biological samples by on-line high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorption spectrometry”. *Anal. Chem. Acta*, **334**: 261, 1996.

LEE, D. K. & CHOI, B. S. “Effect of hydrochloric acid concentrations on the hydride generation efficiencies in ICP-AES”. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **17**: 964, 1996.

LURIE, Ju. “Handbook of Analytical Chemistry”. 2a edição. Mir Publishers, União das Repúblicas Socialistas Soviéticas, 1975.

MANDAL, B. K., OGRA, Y., ANZAI, K. & SUZUKI, K. T. “ Speciation of arsenic in biological samples”. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **198**: 307, 2004.

MENEGÁRIO, A.A. & GINÉ, M.F. “Rapid sequential determination of arsenic and selenium in waters and plant digests by hydride generation inductively coupled plasma-mass spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*, **55**: **355**, 2000.

- MIRAVET, R., LÓPEZ-SANCHEZ, J. F. & RUBIO, R. "Comparison of pre-reducing agents for antimony determination by hydride generation atomic fluorescence spectrometry". *Anal. Chem. Acta*, **511**: 295, 2004.
- MOOR, C. & KOBLER, J. "Determination of selenium in sediments by inductively coupled plasma-mass spectrometry: high resolution *versus* hydride generation". *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**: 285, 2001.
- MORAES, S. D., SINN, H., R., HABERMEHL, G., TERNES, W. & CAMPOS, R. C. "Determinação de selênio em fígado bovino pela técnica de geração de hidretos – espectrometria de absorção atômica". *Pesq. Agrop. Bras.*, **11**: 1347, 1995.
- MORROW, A., WILTSHIRE, G. & HURSTHOUSE, A. "An improved method for the simultaneous determination of Sb, As, Bi, Ge, Se and Te by hydride generation ICP-AES: Application to environmental samples". *At. Spectrom.* **18**: 23, 1997.
- MUÑOZ, O., VÉLEZ, D., CERVERA, M.L. & MONTORO, R. "Rapid and quantitative release, separation and determination of inorganic arsenic [As (III) + As (V)] in seafood products by microwave-assisted distillation and hydride generation atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**: 1607, 1999.
- MUÑOZ, O., DEVESA, V., SUNER, M. <sup>a</sup>, VELEZ, D., MONTORO, R., URIETA, I., MACHO, M. L. & JALON, M. "Total and inorganic arsenic in fresh and processed fish products". *J. Agric. Food Chem.*, **48**: 4369, 2000.
- NAKAHARA, T. & LI, Y. "Determination of trace amounts of antimony in pure copper by high-power nitrogen microwave-induced plasma atomic emission spectrometry with hydride generation". *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**: 401, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, "*Mineral Tolerance of Domestic Animals*". Washington, D.C., National Academy of Sciences, 1980.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, "*Nutrient Requirements of Beef Cattle*", Washington, D.C., National Academy of Sciences, 1996.

- NAVARRO, M., LÓPEZ, H., RUIZ, M. L., GONZÁLEZ, S., PÉREZ, V. & LÓPEZ, M. C. "Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake". *Sci. Total Environ.*, **175**: 245, 1995.
- NYGAARD, D. D. & LOWRY, J. H. "Sample digestion procedures of simultaneous determination of arsenic, antimony, and selenium by inductively coupled argon plasma emission spectrometry with hydride generation". *Anal. Chem.*, **54**: 803, 1982.
- OLIVEIRA, E., MALAREN, J. W. & BERMAN, S. S. "Simultaneous determination of arsenic, antimony and Selenium in marine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Anal. Chem.*, **55**: 2047, 1982.
- OLIVEIRA-NETO, M. P., MATTOS, M., CUZZY-MYA, T. & PIRMEZ, C. "Paniculite eosinofílica localizada em conseqüência de injeções intramusculares de composto de antimônio para tratamento de leishmaniose tegumentar americana localized eosinophilic panniculitis following intramuscular injection of pentavalent antimonium for treatment of american tegumentary leishmaniasis". *An. Bras. Dermatol.*, **79**:463, 2004.
- ORELLANA-VELADO, N. G., FERNÁNDEZ, M., PEREIRO, R. & SANZ-MEDEL, A. "Arsenic and antimony determination by on-line flow hydride generation-glow discharge-optical emission detection". *Spectrochim. Acta Part B*, **56**: 113, 2001.
- PACEY, G. E., STRAKA, M. R. & GORD, J. R. "Dual phase gas-diffusion flow-injection analysis hydride generation atomic-absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, **58**: 502, 1986.
- PARKER, L. R., TIOH, N. H. & BARNES, R. M. Optimization approaches to the determination of arsenic and selenium by hydride generation and ICP-AES". *Appl. Spectrosc.*, **39**: 45, 1985.

- PEÑA, Y. P., GALLIGNANI, M., BURGUERA, M., BURGUERA, J. L., AÑEZ, M. & LUGO, A. Y. " Selective determination of antimony (III) and antimony (V) in blood serum and urine by hydride generation and atomic absorption spectrometry". *J. Braz. Chem. Soc.*, **1**:72, 1990.
- PINILLOS, S. C., ASENSIO, J. S. & BERNAL, J. G. "Simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium by gas-phase diode array molecular absorption spectrometry, after preconcentration in a cryogenic trap". *Anal. Chim. Acta*, **300**: 321, 1995.
- PITTS, L., FISHER, A. WORSFOLD, P. & HILL, S. J. "Selenium speciation using high performance liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence with on-line microwave reduction". *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**: 519, 1995.
- POHL, P. & ZYRNICKI, W. "On the transport of some metals into inductively coupled plasma during hydride generation process". *Anal. Chim. Acta*, **429**: 135, 2001.
- POHL, P. & ZYRNICKI, W. "Study of chemical and spectral interferences in the simultaneous determination of As, Bi, Sb, Se and Sn by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **468**: 71, 2002.
- POHL, P. "Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry". *Trends Anal. Chem.*, **23**: 87, 2004.
- PRETORIUS, L.; KEMPSTER, P. L.; VANVLIET, H. R., & VANSTADEN, J. F. "Simultaneous determination of arsenic, selenium and antimony in water by an inductively coupled plasma hydride method". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **342**: 391, 1992.
- QUINAIA, S. P. & ROLLEMBERG, M. C. E. "Selective reduction of arsenic species by hydride generation- atomic absorption spectrometry. Part 2 – sample storage and arsenic determination in natural waters". *J. Braz. Chem. Soc.*, **12**: 37, 2001.

- RATH, S. TRIVELIN, L. A., IMBRUNITO, T. R., TOMAZELA, D. M., JESÚS, M. N., MARZAL, P. C., JUNIOR, H. F. A. & TEMPONE, A. G. "Antiamoniacaís empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte". *Quím. Nova*, **26**: 550, 2003.
- RAYMAN, M. P., ABOU-SAKRA, F. R. & WARD, N. I. "Determination of selenium in blood serum by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**: 61, 1996.
- REILLY, C., "Selenium in Australian health and disease: a review". *Aust. J. Nutri. Diet.*, **50**: 137, 1993.
- REIS, B. F., GINÉ M. F. & KRONKA, E. A. M. "A análise química por injeção em fluxo contínuo". *Quím. Nova*, **12**: 82, 1989.
- RIBEIRO, A. S., VIEIRA, M. A. & CURTIUS, A. J. "Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **59**: 243, 2004.
- RINGMANN, S., BOCH, K., MARQUARDT, W., SCHUSTER, M., SCHLEMMER, G. & KAINRATH, P. "Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **452**: 207, 2002.
- RISNES, A. & LUND, W. "Comparison of systems for eliminating interferences in the determination of arsenic and antimony by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**: 943, 1996.
- RODRIGUES, S. H. B. G. "Preparo de amostras de sêmen e plasma seminal bovino para determinação de se,e mo por espectrometria de absorção atômica em forno

- de grafite". São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2002. Tese de doutorado, 81 p.
- ROJAS, I.; MURILLO, M.; CARRION, N., & CHIRINOS, J. "Investigation of the direct hydride generation nebulizer for the determination of arsenic, antimony and selenium in inductively coupled plasma optical emission spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, **376**: 110, 2003.
- ROSA, C. R., MORAES, M., NETO, J. A. G., NÓBREGA, J. A. & NOGUEIRA, A. R. A. . "Effect of modifiers on thermal behaviour of Se in acid digestates and slurries of vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Food Chem.* **79**: 517, 2002.
- SAMANTA, G., CHOWDHURY, T.R., MANDAL, B.K., BISWAS, B.K., CHOWDHURY, U.K., BASU, G.K., CHANDA, C.R., LODH, D., CHAKRABORTI, D., "Flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry for determination of arsenic in water and biological samples from arsenic-affected districts of West Bengal, India and Bangladesh". *Microchem. J.*, **62**: 174, 1999.
- SANTOS, E. J. & OLIVEIRA, E. "Evaluation of arsenic and selenium in brazilian soluble coffee by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation". *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **44**: 233, 2001.
- SCHRAMMEL, P. & XU, L. Q. "Determination of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tin in biological and environmental-samples by continuous-flow hydride generation ICP-AES without gas-liquid separator". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **340**: 41, 1991.
- SHRAIM, A., CHISWELL, B. & OLSZOWY, H., "Speciation of arsenic by hydride generation-atomic absorption spectrometry (HG-AAS) in hydrochloric acid reaction medium". *Talanta*, **50**: 1109, 1999.
- SILVA FILHO, J. C., ARMELIN, M. J. A. & SILVA, A. G. "Determinação da composição mineral de subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal pela técnica de ativação neutrônica". *Pesq. Agropec. Bras.*, **34**: 234, 1999.

- SIMON, S., LOBOS, G., PANNIER, F., GREGORI, I. DE, PINOCHET, H. & PONTIN-GAUTIER, M. "Speciation analysis of organoarsenical compounds in biological matrices by coupling ion chromatography to atomic fluorescence spectrometry with on-line photooxidation and hydride generation". *Anal. Chem. Acta*, **521**: 99, 2004.
- SMICHOWSKI, P. & MARRERO, J. "Comparative study to evaluate the effect of different acids on the determination of germanium by hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Anal. Chem. Acta*, **376**: 283, 1998.
- SOUZA, M. L., MENEZES, H. C. "Processamentos de amêndoa e torta de castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade". *Ciênc. Technol. Aliment.*, **24**: 120, 2004.
- STRIPEIKIS, J., COSTA, P., TUDINO, M. & TROCCOLI, O. "Flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometric determination of Se(VI) and Se(IV): utility of a conventionally heated water bath for on-line reduction of Se(VI)". *Anal. Chim. Acta*, **408**: 191, 2000.
- STURGEON, R. E., & MESTER, Z. "Analytical applications of volatile metal derivatives". *Appl. Spectrosc.*, **56**: 202, 2002.
- SUN, H. -W., QIAO, F. -X., SUO, R., LI, L. -X & LIANG, S. -X. "Simultaneous determination of trace arsenic (III), antimony (III), total arsenic and antimony in Chinese medicinal herbs by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry". *Anal. Chem. Acta*, **505**: 255, 2004.
- TAKASE, I., PEREIRA, H. B., LUNA, A. S., GRIMBERG, P. & CAMPOS, R. C. "A geração química de vapor em espectrometria atômica". *Quím. Nova*, **25**, 1132, 2002.

- TAO, G. –H. & STURGEON, R. E. “Sample nebulization for minimization of transition metal interferences with selenium hydride generation ICP-AES”. *Spectrochim. Acta Part B*, **54**: 481, 1999.
- TEMPRANO, M. C. V., FERNANDEZ, B. A., DELACAMPA, M. R. F. & SANZMEDEL, A. “Study of the influence of ordered media on the determination of lead by hydride generation inductively coupled plasma-atomic emission-spectrometry”. *Anal. Chim. Acta*, **283**: 175, 1993.
- THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B., & WALTON, S. J. “Simultaneous determination of trace concentrations of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium in aqueous-solution by introduction of gaseous hydrides into an inductively coupled plasma source for emission spectrometry. 1. Preliminary Studies”. *Analyst*, **103**: 568, 1978.
- TIAN, X. –D., ZHUANG, Z. –X., CHEN, B. & WANG, X. –R. “Movable reduction bed hydride generator coupled with inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of some hydride forming elements”. *Analyst*, **123**: 627, 1998.
- UGGERUD, H. & LUND, W. “Use of thiourea in the determination of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**: 405, 1995,
- UNDERWOOD, E. J., “*Trace Elements in Human and Animal Nutrition*”, New York, Academic Press, **1977**.
- URSINI, F., HEIM, S., KIESS, M, MAIORINO, M, ROVERI, A., WISSING, J. & FLOHE, L. “Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation”. *Science*, **285**: 1393, 1999.
- VANDECASTEELE, C. & BLOCK, C. B.; *Modern methods for trace element determination*, John Wiley & Sons Inc, New York, USA, (1993) 9-52.

- VILLA-LOJO, M. C., ALONSO-RODRÍGUEZ, E., LÓPEZ-MAHIA, P., MUNIATEGUI-LORENZO, S. & PRADA-RODRÍGUEZ, D. "Coupled high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorption spectrometry for inorganic and organic arsenic speciation in fish tissue". *Talanta*, **57**: 741, 2002.
- VONDERHEIDE, A. P., WROBEL, K., KANNAMKUMARATH, S. S., B'HYMER, C., MONTE-BAYÓN, M., LEÓN, C. P. & CARUSO, J. A. "Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS". *J. Agric.Food Chem.*, **50**: 5722, 2002.
- WATSON, S. J. "Sequential determination of arsenic, antimony and bismuth in low-alloy steels by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission-spectrometry". *Analyst*, **111**: 225, 1986.
- WEISS, D., SHOTYK, W., SCHAFFER, H., LOYALL, U., GROLLMUND, E., & GLOOR, M. "Microwave digestion and determination of Pb by voltammetry". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **363**: 300, 1999.
- WELZ, B. & SPERLING, M., "Atomic Absorption Spectrometry", Weinheim, Germany, Ed. Wiley-VCH, 3<sup>rd</sup> ed., 1999.
- WLODARCZYK, M. & ZYRNICKI, W. "Spectroscopic characterization of low power argon microwave-induced plasma with gaseous species produced from ethanol – water solutions in continuous hydride generation process". *Spectrochim. Acta Part B*, **58**: 511, 2003.
- ZHANG, L. S. & COMBS, S. M. "Determination of selenium and arsenic in plant and animal tissues by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**: 1049, 1996.
- ZHOU, C. Y., WONG, M. K., KOH, L. L. & WEE, C. C., "Microwave-assisted diluted acid extraction of trace metals from biological samples for atomic absorption spectrometry determination", *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**: 585, 1996.