5. MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

Os métodos analíticos utilizados na caracterização química de amostras geológicas são variados. Os métodos clássicos, como a gravimetria, a volumetria e outros, exigem tempos e recursos humanos intensivos, e os seus limites de detecção não respondem às exigências impostas na actualidade. Assim, estes métodos foram sendo substituídos por métodos instrumentais como a espectrometria de absorção atómica com chama (FAAS), com câmara de grafite (GFAAS) e com geração de hidretos (GFAAS), a espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-AES), a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), entre outros. Os métodos instrumentais, apesar de exigirem um forte investimento em equipamento de custo elevado, o qual é amortizado pela poupança em recursos humanos (devido à automatização) e reagentes, permitem alargar a escala de concentração dos elementos até níveis da ordem de grandeza dos ppm, ppb ou mesmo ppt (Fig. 5.1.).

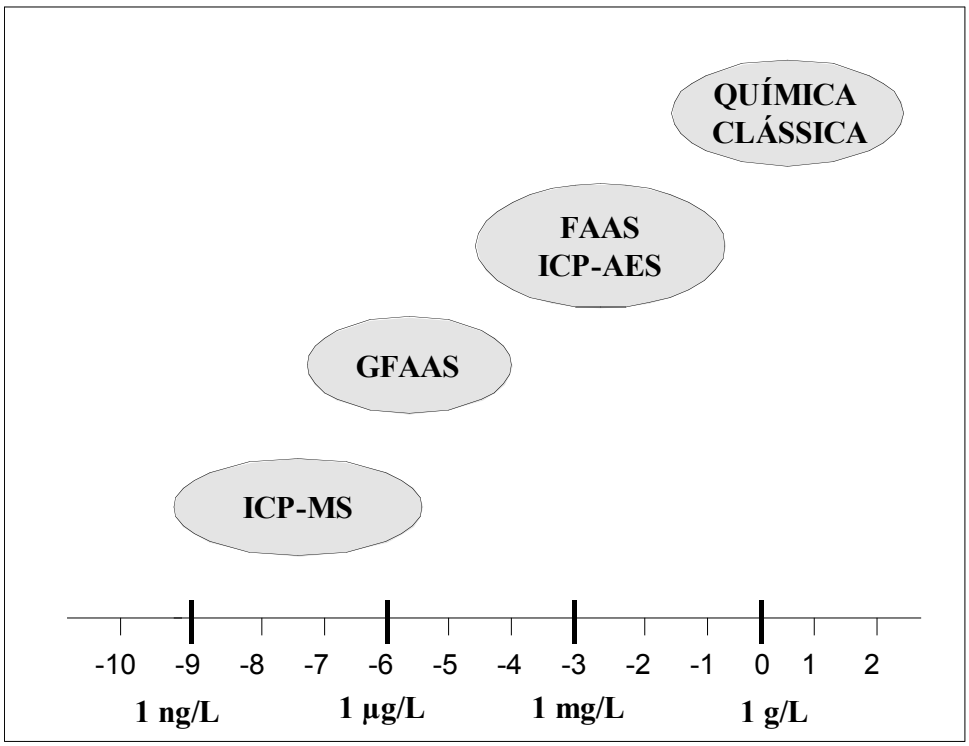


Fig. 5.1. Capacidade analítica de alguns métodos: espectrometria de absorção atómica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atómica com câmara de grafite (GFAAS), espectrometria de absorção atómica com geração de hidretos (GFAAS), espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-AES), espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS) e química clássica. Adaptado de Slavin (1992), Hall (1996) e Canto Machado (2002a).

5.1. ESCOLHA DO MÉTODO ANALÍTICO

A escolha do método analítico apropriado para a caracterização das amostras em estudo foi realizada de forma criteriosa, tendo em consideração alguns dos seguintes factores (Slavin, 1992):

- o tipo de informação que se pretendia obter;
- a quantidade de amostra disponível e a proporção do(s) constituinte(s) a analisar;
- a exactidão e a precisão do método analítico;
- as interferências analíticas e o seu controlo;
- as dificuldades com possíveis contaminações;
- o tempo necessário para analisar cada amostra;
- o custo da análise de cada elemento por amostra.

Cada método possui um campo de aplicabilidade mais ou menos específico e, para que a sua utilização seja a mais adequada, é fundamental o conhecimento dos princípios dos fenómenos físicos presentes, as vantagens e, sobretudo as limitações mais relevantes de cada um deles, de forma a serem criadas as condições experimentais necessárias para a sua aplicação.

Na FAAS, a amostra, previamente convertida num fino aerossol, é introduzida na mistura de gases que alimentam a chama produzida num queimador laminar. As tentativas de minimizar as elevadas perdas de amostra durante a fase de nebulização e o reduzido tempo de permanência dos átomos na chama, condicionam drasticamente a sensibilidade do método, tornando-o inadequado para aplicações quantitativas na gama dos μg/L (ppb). Este método apresenta, portanto, limites de detecção demasiado altos para algumas aplicações.

O ICP-AES dispõe de um sistema de detecção de radiação que permite determinar, numa só amostra e rapidamente, um elevado número de elementos. Os limites de detecção que se conseguem atingir são da ordem de grandeza ou um pouco inferiores aos conseguidos por FAAS, mas mais elevados do que os alcançados com GFAAS (Tyler, 1991, 1995).

Podemos afirmar que o ICP-AES tem vantagens reais sobre a AAS quando existe um processamento de grande número de amostras e determinação de vários elementos em cada amostra. Além disso, o ICP-AES tem ainda sobre a FAAS a vantagem de permitir a obtenção de melhores limites de detecção para elementos refractários (por exemplo: alumínio, titânio, zircónio). Em contrapartida, o ICP-AES tem a desvantagem de ser uma técnica menos adequada à determinação dos elementos mais voláteis (como: arsénio, bismuto, germânio, índio, chumbo, antimónio, selénio, estanho e telúrio), sendo estes analisados por HGAAS.

Também, os limites de detecção obtidos para elementos do grupo I (por exemplo: sódio, potássio) são, geralmente, melhores por FAAS do que por ICP-AES. A técnica de ICP-AES tem boa aplicabilidade na análise de elementos como o boro, o berílio, o lítio, o fósforo, o enxofre e o silício. No campo económico, o custo da instrumentação do ICP-AES é mais elevado do que a de AAS, sobretudo o sistema de operação que é bastante mais dispendioso, principalmente devido ao consumo de árgon (13-18 L/min) (Tyler, 1991; Jarvis & Jarvis, 1992; Slavin, 1992; Ure et al., 1992; Tyler, 1995).

O Laboratório de Espectrometria do DCT-UM dispõe de dois espectrómetros: um de emissão com plasma indutivo e outro de absorção atómica, com gerador de hidretos e com câmara de grafite.

Assim, para a execução deste trabalho, que envolve o processamento de um grande número de amostras e de determinações de vários elementos em cada amostra, foi, inicialmente, escolhido o método de ICP-AES. Dado que os valores de concentração de alguns elementos eram muito baixos e difíceis de detectar por este método, foi também necessário escolher o método de HGAAS para a análise de arsénio e de antimónio, e o método de GFAAS para a análise de chumbo.

A implementação dos métodos analíticos por espectrometria atómica e a sua aplicação ao tipo de amostras a manusear, obrigou a um conhecimento aprofundado dos métodos em questão, sendo necessário a consulta de referências bibliográficas diversas. Em seguida, apresenta-se uma síntese dos fundamentos dos métodos utilizados.

5.2. FUNDAMENTOS DA ESPECTROMETRIA ATÓMICA

5.2.1. ORIGEM DOS ESPECTROS ATÓMICOS

Quando se fornece a um átomo energia suficiente para ocasionar a passagem dum electrão do nível energético E_0 para o nível E*, a transição pode ocorrer e, assim, o átomo absorve uma quantidade de energia ($\Delta E = E^* - E_0$) (Fig. 5.2.). As formas como a energia é cedida são diversas: térmica, eléctrica, entre outras.

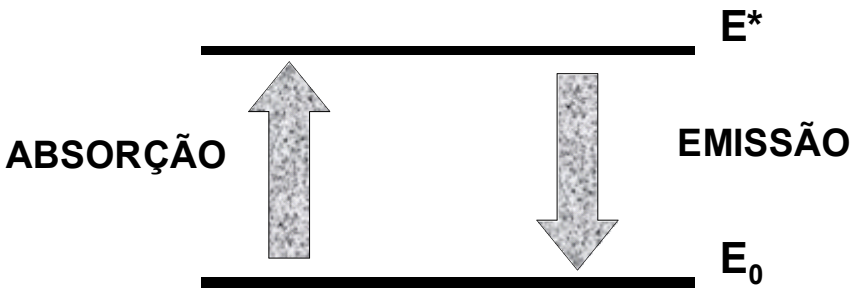


Fig. 5.2. Esquema das transições de absorção e emissão de energia por um átomo.

O tempo de vida do átomo no estado excitado é da ordem de grandeza dos nanossegundos, pelo que os electrões passam de E* a E_0. Para que esta transição ocorra, é necessário que o átomo ceda a energia correspondente à diferença E^*-E_0, a qual pode ser emitida na forma de radiação. Esta é caracterizada por uma frequência, comprimento de onda e número de onda dados por

$$E^*-E_0 = h\,\nu = hc / \lambda = hc\,\bar{\nu} \quad (1)$$

em que ν é a frequência (s^{-1} ou Hz), λ é o comprimento de onda (m) e $\bar{\nu}$ é o número de onda (m^{-1}) da radiação emitida, c é a velocidade da luz ($2{,}9979 \times 10^8$ m/s) e h é a constante de Planck ($h = 6{,}63 \times 10^{-34}$ Js) (Potts, 1987; Lajunen, 1992).

Expressão idêntica a (1) é utilizada na relação entre a energia de transição e a frequência da radiação, quando em lugar da emissão ocorre a absorção atómica. Na figura 5.2. estão esquematizados os dois processos.

A população de átomos nos diferentes níveis atómicos depende da energia cedida e da natureza do elemento, ou seja, da diferença E^*-E_0.

Embora o processo de absorção seja basicamente o inverso da emissão existe uma diferença fundamental: a absorção é apenas observada a partir do estado fundamental.

5.2.2. CARACTERÍSTICAS DAS RISCAS ESPECTRAIS

A intensidade das riscas e, portanto, a sensibilidade do método, depende do número de átomos que existe no nível a partir do qual se dá a transição.

A relação entre o número de átomos que existem no estado excitado, N*, e no estado fundamental, N_0, para uma dada temperatura é dada pela lei de Boltzmann (Potts, 1987; Lajunen, 1992):

$$N^* = N_0 \, (P^*/P_0) \exp\left(-\frac{E^* - E_0}{KT}\right) \quad (2)$$

em que

N* e N_0	(*) nº de átomos no estado excitado;
	(o) nº de átomos no estado fundamental;
P* e P_0	Factores estatísticos que dependem do número de estados degenerados de energia, associados a um dado nível quântico;
E e E_0*	Energias associadas nos estados excitado e fundamental (em Joule);
T	Temperatura absoluta do sistema (ºK) (fonte atomizadora);
K	Constante de Boltzmann (1,38 x 10^{-23} J/K).

A lei de Boltzmann permite estimar a intensidade de uma risca espectral através do cálculo da população atómica num dado nível energético (Potts, 1987). A intensidade da risca espectral (proporcional a N*) de um dado elemento, para um dado comprimento de onda ($\lambda = hc/(E^* - E_0)$) e uma dada temperatura (T), é proporcional ao número de átomos desse elemento no estado fundamental, por unidade de área da fonte atomizadora (N_0) (Canto Machado, 2002b).

Os dois métodos analíticos, absorção atómica e emissão atómica, são possíveis, baseados na circunstância de que, a uma dada temperatura da ordem de grandeza de alguns milhares de graus, existem átomos no estado fundamental e no estado excitado. Os primeiros estão em condições de absorver energia, por exemplo, fornecida por uma radiação de frequência ressonante com a transição electrónica respectiva, dando origem à absorção atómica; os segundos para emitirem radiação, dando origem à emissão atómica.

5.2.3. MÉTODOS DE ESPECTROMETRIA ATÓMICA ESTUDADOS

Os métodos de espectrometria atómica utilizam a radiação electromagnética que é absorvida ou emitida pelos átomos da amostra. Através destes, é possível obter informações das amostras em estudo, quer a nível qualitativo, quer a nível quantitativo. A informação qualitativa é fornecida pelo comprimento de onda no qual a radiação é absorvida ou emitida e a informação quantitativa é fornecida pela quantidade de radiação electromagnética que é absorvida ou emitida (Boss & Fredeen, 1989; Csuros & Csuros, 2000). Os métodos de espectrometria estudados são:

- **Espectometria de Absorção Atómica (*Atomic Absorption Spectrometry* - AAS)**
  A radiação de comprimento de onda característico do elemento em estudo é emitida através do vapor atómico. Os átomos do elemento absorvem alguma desta radiação. A quantidade de radiação absorvida por estes átomos é medida e usada para determinar a concentração do elemento na amostra em estudo (Boss & Fredeen, 1989; Csuros & Csuros, 2000).
- **Espectometria de Emissão Atómica (*Atomic Emission Spectrometry* - AES)**
  A amostra é submetida a altas temperaturas, causando não só a dissociação dos átomos, mas também, uma quantidade de colisões, que provocam a excitação (ou ionização) dos átomos da amostra. Uma vez que os átomos se encontram em estados de energia superiores (estados excitados), a tendência é voltar a estados de mais baixa energia, emitindo energia. A intensidade da radiação, emitida num comprimento de onda específico, é medida e usada para determinar a concentração do elemento em estudo (Boss & Fredeen, 1989; Csuros & Csuros, 2000).

5.3. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO COM PLASMA INDUTIVO (ICP-AES)

O método de espectrometria de emissão com plasma indutivo tem subjacente o fenómeno de excitação de átomos ou iões livres no estado gasoso e a consequente emissão de radiação electromagnética, ocasionada pelo retorno das espécies excitadas ao seu estado de mais baixa energia, o estado fundamental.

5.3.1. PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO

O fenómeno de excitação ocorre por mudanças dos níveis de energia dos electrões periféricos, facto que determina a conversão prévia de uma amostra líquida ou sólida em vapor atómico: a atomização da amostra (Boss & Fredeen, 1989; Jarvis & Jarvis, 1992). Este processo encontra-se esquematizado na figura 5.3.

A amostra é introduzida no plasma sob a forma de aerossol. O aerossol é transportado para a zona aquecida, onde é rapidamente submetido à dessolvatação (remoção do solvente da amostra líquida), à volatilização para níveis moleculares e à dissociação em átomos, dos quais alguns são ionizados. O vapor atómico resultante do processo de atomização de uma amostra é fundamentalmente constituído por átomos gasosos no estado fundamental de energia. Simultaneamente, uma fracção desses átomos é excitada ou ionizada, produzindo-se uma mistura gasosa de átomos e iões em vários estados de energia.

A emissão produzida pelo regresso dos átomos e iões excitados que voltam ao estado fundamental é medida na cauda do plasma usando um espectrómetro óptico (Jarvis & Jarvis, 1992).

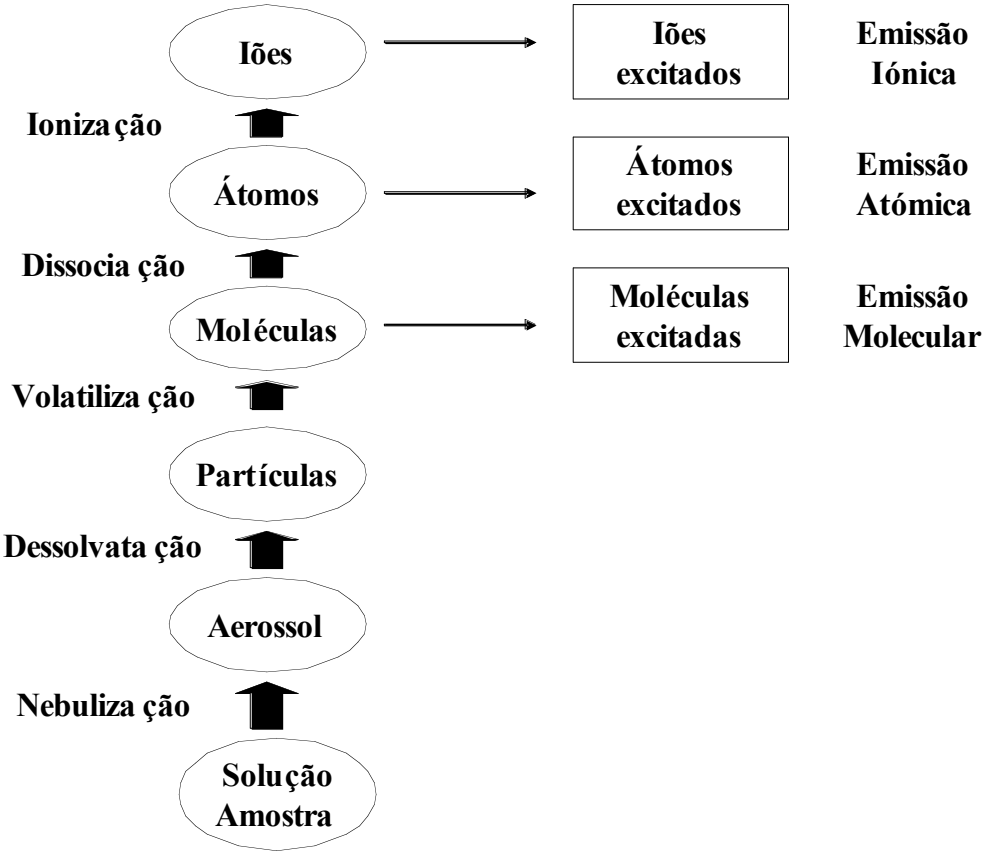


Fig. 5.3. Esquema do processo de atomização (adaptado de Jarvis & Jarvis, 1992).

Assim, o espectro de emissão relativo a um dado elemento é constituído por um conjunto de riscas, às quais estão associadas transições entre níveis de energia electrónica. A cada risca corresponde uma energia bem definida, que pode ser caracterizada pelo seu comprimento de onda (equação (1), item 5.2.1.).

A temperatura da fonte atomizadora (plasma) exerce um efeito drástico sobre a razão do número de átomos nos estados fundamental e excitado, podendo o efeito deste parâmetro ser quantificado através da equação de Boltzmann (equação (2), item 5.2.2.).

O número de átomos no estado excitado representa sempre uma fracção diminuta do número de átomos no estado fundamental presentes na fase atomizadora, tendo sido estimado um valor de 2%, para temperaturas normais de um plasma.

A relação **I = Kc**, onde **I** é a intensidade da risca espectral seleccionada e **c** representa a concentração analítica do elemento na solução aspirada, cuja verificação é indispensável para que o fenómeno de emissão atómica possa ser utilizado em análise quantitativa, só ocorre em condições de estabilidade da temperatura da fonte atomizadora e do caudal de aspiração das amostras, exigindo igualmente uma elevada qualidade do aerossol produzido.

5.3.2. FORMAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE UM PLASMA DO TIPO INDUTIVO

A fonte de energia que assegura a passagem das amostras líquidas ao estado de vapor atómico é o plasma, sendo este por definição um volume luminoso de um gás raro parcialmente ionizado (Jarvis & Jarvis, 1992), facto que lhe confere propriedades de condutor da corrente eléctrica.

O plasma utilizado é de árgon, sendo a condução de corrente eléctrica assegurada pelos iões positivos de árgon e pelos electrões libertados no decorrer da ionização.

O plasma é uma fonte de calor que pode atingir temperaturas de 10000 K.

O plasma do tipo indutivo (fig. 5.4.) é gerado por uma fonte de radiofrequência que cria campos electromagnéticos (onde o árgon flui) induzidos numa espiral de cobre, montada em torno do topo da tocha de quartzo (Jarvis & Jarvis, 1992; Riddle, 1993).

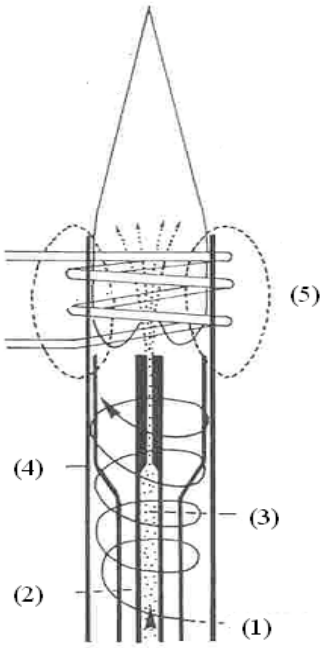


Fig. 5.4. Esquema de um plasma do tipo indutivo: (1) fluxo de gás principal (*coolant*), (2) fluxo de gás auxiliar (*auxiliary*), (3) fluxo de gás do nebulizador (*nebulizer*) e amostra, sob forma de aerossol, (4) tocha de quartzo, (5) campo de radiofrequência. Adaptado de Riddle (1993).

A tocha compreende três tubos concêntricos através dos quais passa árgon. Uma radiofrequência (de 27 ou 40 MHz) aplicada à espiral de cobre produz um campo electromagnético na parte da tocha localizada dentro da espiral. Uma descarga eléctrica, aplicada através de um fio metálico que se encontra em contacto com a tocha, ocasiona a ignição do plasma. Os electrões formados no decurso da ignição do plasma são acelerados, mediante o campo magnético gerado na bobine de cobre, colidindo com os átomos de árgon que atravessam a tocha, produzindo iões Ar^+ e electrões livres. Colisões adicionais causam um aumento do número de átomos de árgon ionizados, resultando a formação do plasma, que se mantém indefinidamente, desde que o campo magnético não seja cortado.

O árgon circula pelos três tubos concêntricos da tocha. O fluxo de gás principal (***coolant***, normalmente com um caudal de 15 L/min), flui na parte exterior da tocha e fornece a maioria do árgon que forma o plasma, fazendo também com que este não toque nas paredes da tocha (para evitar que esta derreta). O fluxo de gás auxiliar (***auxiliary***, normalmente com um caudal de 0,75 L/min), flui no tubo intermédio e controla a posição do plasma na parte frontal da tocha. O fluxo de gás do nebulizador (***nebulizer***, de caudal variável, sendo os valores normais de 1 L/min), flui através do nebulizador, câmara de nebulização e tubo de injecção da amostra no centro da tocha, conduzindo o aerossol ao centro do plasma

(Farnsworth, 1993). Uma vez inserida no centro do plasma, a amostra é vaporizada, atomizada e ionizada.

Um plasma do tipo indutivo apresenta três zonas distintas de temperatura (Fig. 5.5.): a bola de fogo, a região secundária e a cauda, as quais exibem propriedades químicas e físicas, bem como características de emissão muito diferentes (Thompson & Walsh, 1989; Jarvis & Jarvis, 1992; Canto Machado, 1995).

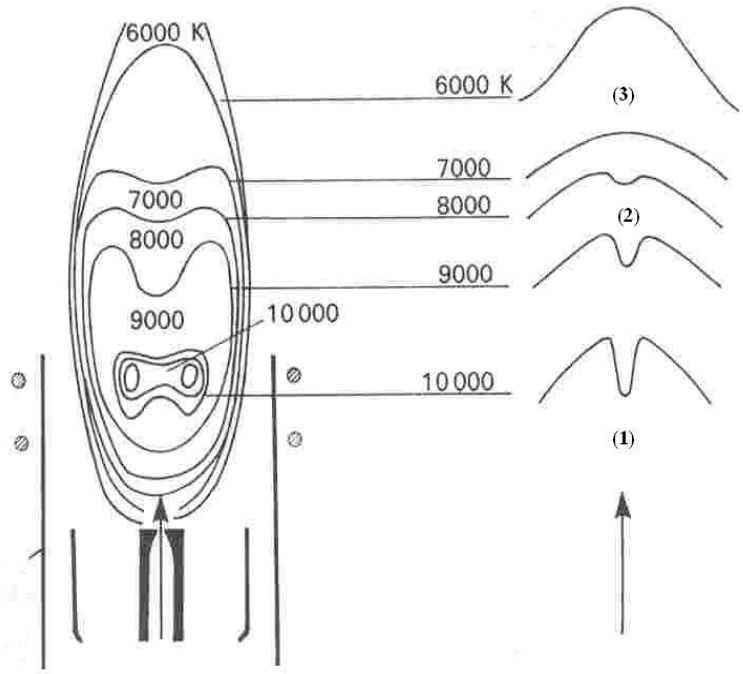


Fig. 5.5. Zonas distintas de temperatura de um plasma do tipo indutivo: (1) bola de fogo, (2) região secundária, (3) cauda. Adaptado de Thompson & Walsh (1989).

A bola de fogo é a zona mais quente do plasma, exibindo uma temperatura da ordem de 10000 K, onde a energia é transferida através da interacção do fluxo de árgon com o campo magnético. É a região mais luminosa que exibe um intenso espectro contínuo, não podendo ser usada para fins quantitativos.

A região secundária localiza-se por cima da bola de fogo, exibindo ainda valores muito altos de emissão de fundo e, portanto, é inadequada para aplicações analíticas.

A cauda, praticamente invisível na ausência de aspiração das amostras, é caracterizada por uma emissão de fundo mais baixa, sendo normalmente utilizada para fins analíticos. Na zona de utilização analítica, a cauda exibe uma temperatura da ordem de 6200-6500 K (Potts, 1987).

A temperatura do plasma é controlada pela potência fornecida pelo gerador de radiofrequência, pelo caudal seleccionado para o *coolant* e pela pressão do árgon no nebulizador. A estabilidade da temperatura do plasma é muito importante na utilização desta fonte para fins analíticos.

5.3.3. INSTRUMENTAÇÃO

A instrumentação básica de um espectrómetro de emissão com plasma indutivo encontra-se representada na figura 5.6.

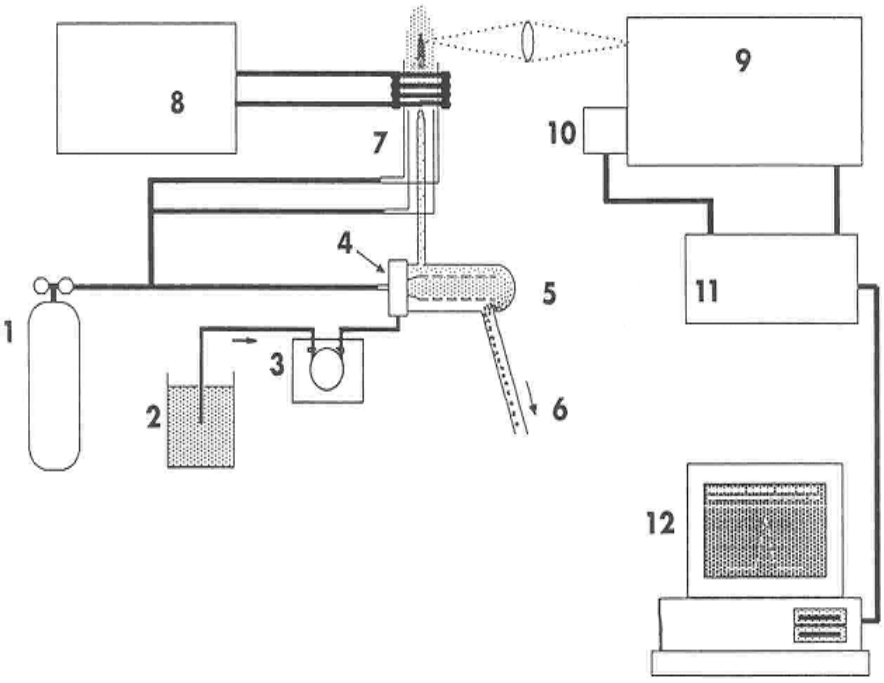


Fig. 5.6. Esquema de um equipamento de espectrometria de emissão com plasma indutivo: (1) árgon, (2) amostra, (3) bomba peristáltica, (4) nebulizador, (5) câmara de nebulização, (6) dreno, (7) tocha, (8) gerador radiofrequência, (9) espectrómetro, (10) detector-PMT, (11) microprocessador, (12) computador. Adaptado de Boss & Fredeen (1989).

As amostras são introduzidas no centro do plasma mediante a formação prévia de um aerossol de finas dimensões, gerado normalmente por um sistema pneumático, constituído por uma bomba peristáltica e um nebulizador. A amostra passa para a câmara de nebulização, onde são removidas as partículas de aerossol grandes, apenas a fracção inferior a 5 μm é libertada para a tocha e o restante é enviado para o dreno. Só cerca de 2 % de solução de

amostra original entra na tocha. A amostra é introduzida no plasma sob a forma de aerossol, ocorrendo instantaneamente a atomização e a excitação dos átomos aí presentes, com emissão de radiação proveniente do retorno das espécies excitadas ao seu estado de mais baixa energia (Boss & Fredeen, 1989; Csuros & Csuros, 2000).

O feixe de radiação emitido é separado nos comprimentos de onda que o constituem, através de monocromadores. Os monocromadores devem ter características especiais em termos de dispersão e resolução (Fig. 5.7.), de forma a tornar possível uma selecção de riscas com um mínimo de interferências. O sistema mais utilizado é constituído por uma rede de difracção em escala ("*echelle grating*") associada a um prisma (Lajunen, 1992).

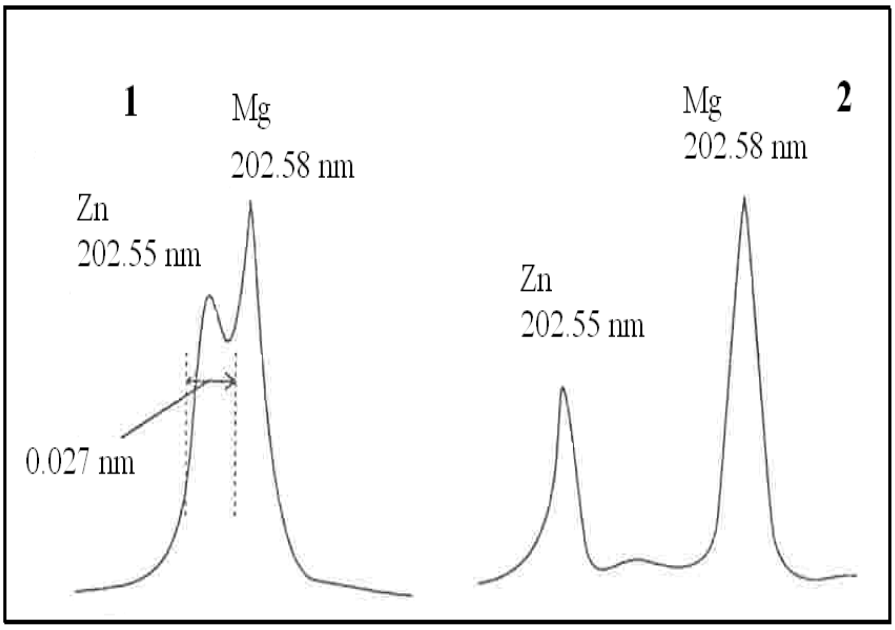


Fig. 5.7. Comparação da resolução de um monocromador convencional (1) e um monocromador "*Echelle*" (2). Adaptado de Lajunen (1992).

A radiação luminosa seleccionada é convertida em corrente eléctrica através de fotomultiplicadores (PMT), sendo este sinal tratado em computador de modo a relacioná-lo com a concentração do analito.

Sistema Óptico

O espectrómetro usado no Laboratório de Espectrometria é do tipo *Echelle* (Fig. 5.8.).

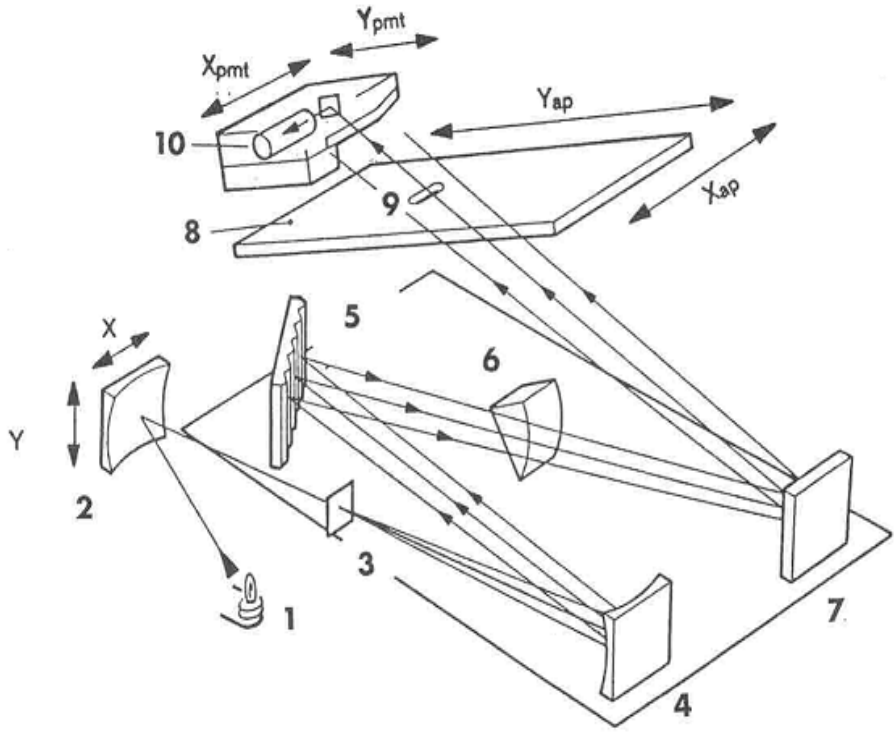


Fig. 5.8. Sistema óptico: (1) fonte, (2) espelho, (3) fenda de entrada, (4) espelho colimador, (5) rede de difracção, (6) prisma/lente, (7) espelho plano, (8) chapa de abertura, (9) fenda de saída, (10) detector PMT. Adaptado de Philips Scientific (1990).

A fonte de luz proveniente do plasma acoplado indutivamente é controlada por um espelho, o qual foca a imagem do plasma na fenda de entrada. O espelho move-se, sob controlo do computador, para fazer o varrimento da imagem do plasma através do eixo X e Y, visando a selecção da melhor posição do plano para análise. Depois da luz passar através da fenda de entrada, é reflectida por um espelho colimador para a rede de difracção. A rede de difracção dispersa a luz por comprimentos de onda. A luz difractada entra no prisma/lente. O resultado é um empilhamento bi-dimensional das ordens, com todos os comprimentos de onda bem separados no espaço, produzindo uma alta resolução. O prisma também actua como uma lente, refocando a luz no detector, pela fenda de saída. O espelho plano envia a luz para a chapa de abertura com milhares de fendas de saída. O detector PMT mede a intensidade da radiação (Philips Scientific, 1990).

5.3.4. INTERFERÊNCIAS

Em espectrometria de emissão com plasma indutivo, as interferências podem ser classificadas em interferências espectrais e em interferências de matriz. Estas últimas, podem ser divididas em vários tipos: físicas, químicas e de ionização (Canto Machado, 2002b).

Interferências espectrais

A complexidade do espectro de emissão propicia o aparecimento de interferências espectrais, produzindo falsos valores de concentração das espécies em análise.

Por vezes, observam-se bandas de emissão provenientes de espécies moleculares gasosas em certas regiões do espectro, que podem ser atribuídas a espécies como: OH, N_2, NH, O_2, SiO. Estas bandas de emissão podem resultar do alargamento de riscas espectrais de elementos que se encontram nas amostras em concentração muito elevada.

Outras vezes, verifica-se a emissão de uma radiação contínua, devida à recombinação de iões de árgon, ou de outros elementos, com os electrões livres que existem no plasma.

Durante o trabalho analítico, é fácil ocorrer uma sobreposição total ou parcial de riscas (Fig. 5.9.) referentes a elementos diferentes (Lajunen, 1992). Os espectros de riscas, emitidos pelas espécies atómicas neutras ou ionizadas, são constituídos por um número muito variável de riscas, função do tipo de elemento emissor, pelo que a sua sobreposição pode acontecer.

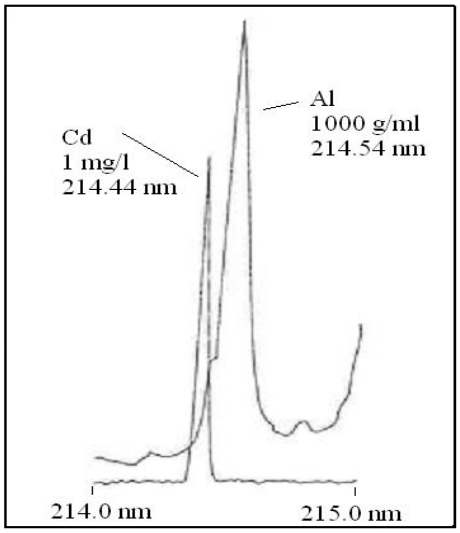


Fig. 5.9. Interferência espectral da linha do alumínio na determinação de cádmio (adaptado de Lajunen, 1992).

Durante o trabalho, as interferências espectrais foram minimizadas mediante a seguinte conduta:

- consulta de tabelas de comprimentos de onda de ICP para despiste de riscas adjacentes;
- obtenção de varrimentos em torno da risca, com aspiração de soluções de elevado grau de pureza de outros elementos e do branco;
- escolha de riscas alternativas para eliminar a sobreposição de riscas;
- selecção da posição dos correctores de fundo para eliminar a influência da emissão de fundo e de bandas moleculares;
- introdução de correctores matemáticos.

Interferências de matriz

As interferências de matriz são provocadas por todos os constituintes da amostra, que não o elemento em estudo, podendo ocasionar o aparecimento de depressões ou sobrecargas nos valores da concentração do analito.

As interferências de matriz subdividem-se em vários tipos, podendo ser físicas, químicas e de ionização.

As **interferências físicas** perturbam as fases de introdução da amostra, produção e transporte do aerossol, tamanho da gota, afectando a eficiência da nebulização. Estes factores alteram de forma significativa a *performance* do plasma, provocando uma diminuição drástica das intensidades das riscas.

Este tipo de interferência provém da viscosidade, da tensão superficial e da tensão de vapor das amostras e da presença de compostos orgânicos nas mesmas, sendo as interferências mais difíceis de eliminar.

Durante o trabalho analítico, estas interferências foram minimizadas através da preparação cuidada das soluções padrão de calibração, onde foram reproduzidas as matrizes das amostras nos padrões (concentração e tipo de ácido, etc.).

As **interferências químicas** ocorrem durante o processo de atomização e dificultam a produção de átomos livres do elemento a dosear. São causadas pelo aparecimento de espécies refractárias.

Em emissão de plasma, este tipo de interferência é minimizado devido à atmosfera inerte em que o processo de atomização ocorre e às temperaturas muito elevadas da fonte.

As **interferências de ionização** perturbam o equilíbrio entre os átomos e iões de cada um dos elementos, sendo provenientes da presença de espécies facilmente ionozáveis.

Durante o trabalho analítico, este tipo de interferência foi minimizado através da reprodução da matriz das amostras nas soluções padrão de calibração. Este tipo de interferência também poderia ser minimizado através da uniformização da matriz, pela adição às amostras e aos padrões de uma quantidade importante (cerca de 10 g/L) de um sal de um elemento facilmente ionizável (cloreto de lítio, césio ou rubídio) de qualidade *suprapur*, a fim de serem evitadas contaminações adicionais.

As interferências de matriz são também minimizadas mediante alterações de alguns parâmetros instrumentais:

- modificações da pressão do árgon no nebulizador e no caudal de aspiração das amostras (minimizam efeitos da matriz no transporte e qualidade do aerossol);
- modificações da potência e do caudal do *coolant* (quando a matriz induz uma alteração da temperatura do plasma);
- escolha da zona do plasma onde são medidas as intensidades das riscas (permitindo a *remoção* dos efeitos de matriz que advêm da presença de um elemento em grande excesso).

5.3.5. VANTAGENS E PROBLEMAS

Em seguida, enunciam-se algumas vantagens e alguns dos problemas mais comuns associados ao método de ICP-AES (Riddle, 1993; Canto Machado, 1994; Tyler, 1995; Csuros & Csuros, 2002).

Vantagens:

- existência de várias linhas espectrais intensas para quase todos os elementos;
- baixos limites de detecção devido a razões pico/fundo geralmente favoráveis;
- interferências de matriz geralmente fracas para soluções diluídas;
- relações lineares para uma ampla gama de concentrações, sendo possível determinar elementos principais e vestigiais a partir da mesma solução de amostra;

- boa repetibilidade para todos os elementos (0,5-5 %);
- permite análises rápidas multi-elementares.

Problemas:

- interferências espectrais;
- interferências físicas causadas por variações de viscosidade e de tensão superficial;
- interferências químicas causadas por formação de compostos moleculares, efeitos de ionização e efeitos termoquímicos associados à vaporização e atomização da amostra no plasma;
- limites de detecção demasiado altos para algumas aplicações;
- não é o método adequado para análise de soluções com mineralizações superiores a 1,5 g/L, com concentrações de ácido iguais ou superiores a 10 %, ou em meio orgânico.

5.4. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS (HGAAS)

A espectrometria de absorção atómica fundamenta-se na absorção de radiação electromagnética, na zona do visível e ultravioleta, por átomos neutros, no estado gasoso (isolados) e no estado fundamental.

A espectrometria de absorção atómica com geração de hidretos baseia-se na formação, por redução, de hidretos covalentes voláteis do elemento a determinar, os quais são posteriormente atomizados e analisados.

Na geração de vapor químico, o analito é separado da matriz da amostra pela geração de espécies gasosas como resultado de uma reacção química. A GFAAS aplica-se a elementos que formam hidretos covalentes voláteis, como: arsénio (As), bismuto (Bi), germânio (Ge), índio (In), chumbo (Pb), antimónio (Sb), selénio (Se), estanho (Sn), telúrio (Te) e mais recentemente o cádmio, o tálio e o cobre (Ure et al., 1992; Hill et al., 1995; Welz & Sperling, 1999).

5.4.1. PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO

O processo de atomização com geração de hidretos engloba as seguintes fases:

1ª Geração de hidretos;

2ª Transferência dos hidretos para o atomizador;

3ª Decomposição dos hidretos com formação de átomos do elemento no estado gasoso.

Nas primeiras aplicações da GFAAS, foi usado como agente redutor o zinco metálico em ácido diluído (ácido clorídrico ou ácido sulfúrico). Contudo, este redutor apresentava algumas desvantagens: a reacção de redução era lenta e só era aplicável à redução de arsénio (Godden & Thomerson, 1980). A adição ao zinco metálico de uma solução de iodeto de estanho (II) ou iodeto de potássio melhora os resultados. Com este processo de redução conseguem-se reacções de redução mais rápidas do que no caso anterior, mas a técnica só é aplicável à determinação de arsénio e selénio. A utilização de uma mistura de cloreto de titânio (III), ácido clorídrico, magnésio e zinco como agentes redutores, é satisfatória para a determinação de antimónio, bismuto e telúrio (Godden & Thomerson, 1980; Lajunen, 1992).

O agente redutor mais utilizado no método de geração de hidretos é o tetrahidroborato de sódio ($NaBH_4$, também designado de borohidreto de sódio). A introdução deste reagente como redutor conduziu a uma nítida mudança neste método analítico (Braman et al., 1972). Usando este redutor, Schmidt & Royer (1973) determinaram o antimónio, o arsénio, o bismuto e o selénio, Pollock & West (1973) determinaram o germânio e Fernandez (1973) optimizou as condições de trabalho para estes elementos e também para o telúrio e o estanho. Thompson & Thomerson (1974) relataram com sucesso a determinação do chumbo usando este redutor e ainda aumentaram para oito o número de metais que podem ser determinados por este método. Nos últimos anos, tem sido também relatada a vaporização do cádmio (Cacho et al., 1989), do tálio (Ebdon et al., 1995) e do cobre (Sturgeon et al., 1996).

Este agente redutor apresenta as seguintes vantagens (Godden & Thomerson, 1980; Lajunen, 1992):

- permite que a reacção ocorra em sistema homogéneo;
- permite que a reacção seja mais rápida e eficaz do que com outros redutores usados com a mesma finalidade;
- aplica-se à determinação de numerosos elementos;
- apresenta baixos níveis de branco.

As soluções de tetrahidroborato de sódio são muito instáveis, decompondo-se rapidamente em meio ácido. A adição de NaOH (ou de KOH) a estas soluções numa concentração de 0,1 %, permite mantê-las estáveis durante cerca de uma semana (Knechtel & Fraser, 1978; Unicam, 1991).

Quando se mistura uma solução do elemento a analisar com a solução alcalina de tetrahidroborato de sódio em meio ácido, ocorre imediatamente a oxidação do anião tetrahidroborato a ácido bórico e a formação de hidreto do elemento (E):

$$8\mathbf{E}^{x+}\,(aq) + Na^{+}\,(aq) + nBH_4^{-}\,(aq) + HCl\,(l) + nH_3O^{+}\,(aq) + 2nH_2O\,(l) \rightarrow nH_3BO_3\,(aq) + 8\mathbf{EH}_n\,(g) + NaCl\,(aq)$$

O excesso de anião tetrahidroborato sofre também decomposição em ácido bórico e diidrogénio:

$$BH_4^{-}\,(aq) + H_3O^{+}\,(aq) + 2H_2O\,(l) \rightarrow H_3BO_3\,(aq) + 4H_2\,(g)$$

Os hidretos voláteis são arrastados da solução para a câmara de atomização (neste caso, o tubo de quartzo) com o auxílio de uma corrente de gás inerte, geralmente árgon. O hidrogénio excedente auxilia, também, o transporte de hidretos.

O mecanismo pelo qual se processa a atomização do elemento a partir dos seus hidretos não é bem conhecido. Inicialmente pensou-se que a passagem ao estado de vapor atómico se dava por simples decomposição térmica do hidreto. Mas, o mecanismo de decomposição de hidretos parece ser muito mais complicado.

Estudos efectuados sobre a decomposição de hidretos de arsénio e selénio levaram a concluir que o mecanismo pelo qual ocorre esta decomposição envolve a colisão do hidreto com radicais livres de hidrogénio (Dedina & Rubeska, 1980; Weltz & Melcher, 1983; Welz & Sperling, 1999):

$$\mathbf{EH}_n\,(g) + H\,(g) \rightarrow \mathbf{EH}_{n-1}\,(g) + H_2\,(g)$$
$$\vdots$$
$$\mathbf{EH}\,(g) + H\,(g) \rightarrow \mathbf{E}\,(g) + H_2\,(g)$$

A presença de concentrações apreciáveis de radicais H no atomizador pode resultar da ocorrência de uma reacção envolvendo oxigénio molecular (presente na mistura gasosa) e hidrogénio molecular, a temperaturas superiores a 600 ºC, tendo sido proposto o seguinte mecanismo (Weltz & Melcher, 1983):

$$H\,(g) + O_2\,(g) \rightarrow OH\,(g) + O\,(g)$$

$$O\,(g) + H_2\,(g) \rightarrow OH\,(g) + H\,(g)$$

$$OH\,(g) + H_2\,(g) \rightarrow H_2O\,(l) + H\,(g)$$

Outros autores, Santosa et al. (1990), admitem a hipótese de o hidreto ser oxidado pelo oxigénio e dar origem a átomos gasosos do elemento (E) a determinar e a água:

$$\mathbf{EH}_n\,(g) + (n/4)O_2\,(g) \rightarrow \mathbf{E}\,(g) + (n/2)H_2O$$

Cálculos termodinâmicos, efectuados para o arsénio e para o selénio, revelaram que, em certas condições experimentais, pode ocorrer polimerização do elemento (Weltz & Melcher, 1983). A polimerização afecta as medições, pois provoca diminuição do sinal. Para evitar a formação de polímeros deve-se reduzir o tempo de residência do hidreto no atomizador, usando um fluxo de gás inerte.

5.4.2. INSTRUMENTAÇÃO

A instrumentação básica de um espectrómetro de absorção atómica com geração de hidretos encontra-se representada na figura 5.10.

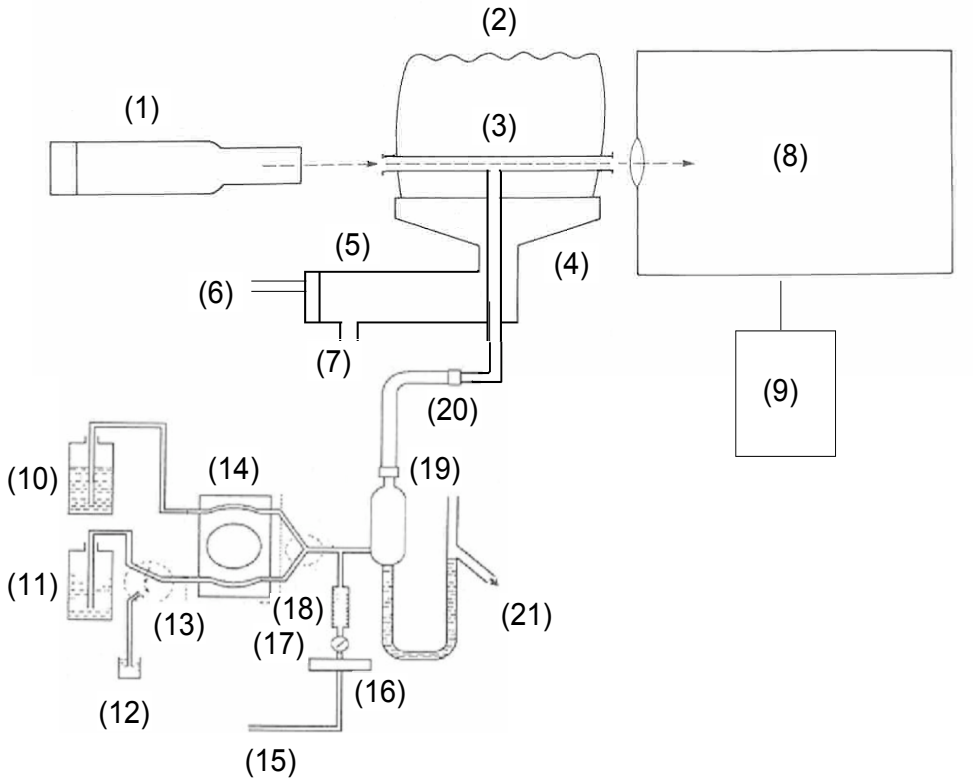


Fig. 5.10. Esquema de um equipamento de HGAAS: (1) fonte de radiação: lâmpada de cátodo oco, (2) chama, (3) câmara de atomização: tubo de quartzo em forma de T e aberto nas extremidades, (4) queimador, (5) câmara de nebulização, (6) gases, (7) dreno, (8) monocromador, (9) detector, (10) solução de redutor (borohidreto de sódio), (11) solução de ácido, (12) solução de amostra, (13) válvula de selenóide, (14) bomba peristáltica de dois canais, (15) gás inerte (árgon ou azoto), (16) detector de fluxo, (17) válvula de regulação, (18) indicador do fluxo de gás, (19) vaso de reacção, (20) tubo de ligação ao atomizador (21) dreno. Adaptado de Potts (1987) e Unicam (1991).

A geração de hidretos é realizada em sistema de fluxo contínuo. Neste sistema, a produção de hidretos dá-se continuamente, num vaso apropriado, que é alimentado por fluxos constantes de amostra acidificada e redutor. A amostra e os reagentes são aspirados por intermédio de uma bomba peristáltica, sendo a amostra misturada com o ácido e o redutor (borohidreto de sódio). A mistura segue para um separador gás-líquido, onde o hidreto é retirado da solução aquosa com auxílio de um gás de purga. A mistura gasosa segue para o tubo de quartzo (câmara de atomização). Os produtos da reacção gasosos não são átomos de analito livres, mas hidretos voláteis. No tubo de quartzo (atomizador) aquecido pela chama

dá-se a dissociação dos hidretos voláteis em átomos livres do analito. O tubo de quartzo é aquecido pela chama de ar-acetileno e a amostra não é misturada com estes gases. A energia térmica é a energia de atomização dos hidretos. A integração do sinal no tempo permite obter resultados bastante precisos (Unicam, 1991; Riddle, 1993).

A atomização ocorre num tubo de quartzo, em forma de T e aberto nos extremos, que é aquecido pela chama. Este tipo de atomização tem a vantagem de permitir que o elemento a analisar, no estado de vapor atómico, tenha um tempo de residência mais longo no percurso óptico do que quando é introduzido directamente na chama, o que aumenta a sensibilidade do método. É necessário realçar que a superfície do tubo de quartzo parece exercer um papel importante na sensibilidade, pois, embora o mecanismo de atomização não seja bem conhecido, admite-se que intervenha como catalizador no processo de formação de radicais livres, favorecendo a atomização (Weltz & Melcher, 1983; Parisis & Heyndrickx, 1986).

5.4.3. INTERFERÊNCIAS

Interferências espectrais

A principal vantagem do método de geração de hidretos é permitir a separação do analito da matriz. O analito passa para o atomizador como hidreto gasoso, enquanto que, os possíveis interferentes, normalmente, permanecem no vaso de reacção. Neste método, as interferências espectrais são praticamente excluídas (Lajunen, 1992).

Interferências cinéticas

As interferências cinéticas são causadas pela alteração das velocidades de formação e libertação dos hidretos da solução. O uso da integração do pico da área, como alternativa ao uso do pico em altura, pode ajudar a eliminar as interferências cinéticas. O volume de solução de amostra pode ter uma influência importante na sensibilidade. Os hidretos são libertados mais facilmente de volumes pequenos do que de volumes grandes de amostra. Contudo, na prática, esta situação não é problema, desde que os volumes de amostra usados sejam constantes (Lajunen, 1992).

Durante o trabalho analítico, este tipo de interferência foi minimizado através do uso de volumes constantes de amostra.

Interferências químicas

Os ácidos, geralmente, apresentam uma pequena influência nos elementos que formam hidretos, excepto no selénio e no estanho. O ácido fluorídrico causa interferências a concentrações relativamente baixas, pelo que deve ser evaporado antes de se proceder à determinação. O ácido clorídrico e o ácido nítrico apenas diminuem o sinal a concentrações relativamente altas (Lajunen, 1992). Para a maioria dos elementos que formam hidretos, o uso de ácido clorídrico a concentrações entre 5 a 20 % garante uma rápida, homogénea e quantitativa reacção com o tetrahidroborato de sódio (Unicam, 1991).

Durante o trabalho, na análise química do arsénio e do antimónio, foi usado ácido clorídrico numa concentração próxima de 10 %.

Os metais alcalinos, os metais alcalino-terrosos, o alumínio, o titânio, o vanádio, o crómio, o manganês e o zinco não interferem com a determinação de elementos que formam hidretos. As principais interferências químicas são causadas por elementos dos grupos 8, 9, 10 e 11 da tabela periódica. Um catião metálico de transição presente no gerador de hidretos pode ser reduzido pelo tetrahidroborato de sódio e precipitar (Lajunen, 1992).

5.4.4. VANTAGENS E PROBLEMAS

Em seguida, enunciam-se algumas vantagens e alguns dos problemas mais comuns associados ao método de HGAAS (Milner & Whiteside, 1984; Potts, 1987; Viets & O'Leary, 1992; Csuros & Csuros, 2002).

Vantagens:

- permite a separação do elemento da matriz;
- interferências de matriz praticamente nulas;
- limites de detecção baixos.

Problemas:

- poucos elementos geram hidretos estáveis;
- depende de vários parâmetros, como o estado de oxidação do analito, o tempo de reacção, a pressão do gás, a concentração e o volume da solução, e a temperatura da célula.

5.5. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA COM CÂMARA DE GRAFITE (GFAAS)

A espectrometria de absorção atómica com câmara de grafite também é designada de espectrometria de absorção atómica com forno de grafite ou com atomização electrotérmica.

Na atomização electrotérmica, a amostra é introduzida no forno ou câmara de grafite, a qual é submetida a um aquecimento progressivo previamente programado (Riddle, 1993). A temperatura da câmara sobe à medida que se aumenta a diferença de potencial aplicada nos extremos da câmara ou à secção transversal, sendo o calor desenvolvido por efeito de Joule. A característica mais importante da atomização electrotérmica é o facto dos átomos permanecerem no atomizador por um período relativamente longo ($\leq$ 1s), o que torna a técnica mais sensível do que a atomização em chama.

5.5.1. PROGRAMA DE TEMPERATURAS

O desenvolvimento de um método de análise por absorção atómica com câmara de grafite inicia-se, habitualmente, pelo estudo do programa de temperaturas.

A quantidade de amostra introduzida no sistema varia de 1 a 100 microlitros. Esta pode ser introduzida no tubo de grafite com o auxílio de uma micropipeta ou usando um sistema de amostragem automático (Viets & O'Leary, 1992). No Laboratório de Espectrometria do DCT-UM utiliza-se um sistema de amostragem automático. Recorre-se a este sistema, pois é difícil injectar manualmente e de forma reprodutível quantidades tão pequenas de amostra. Os sistemas de amostragem automática também permitem maior produtividade devido à automatização das calibrações, diluições e injecções sequenciais da amostra.

A injecção da amostra no interior do tubo de grafite é uma etapa muito importante, que irá interferir na qualidade dos resultados. Se a posição do capilar no interior do tubo de grafite não for a correcta (Fig. 5.11.), a reprodutibilidade e a sensibilidade obtidas não serão as melhores (ATI Unicam, 1995).

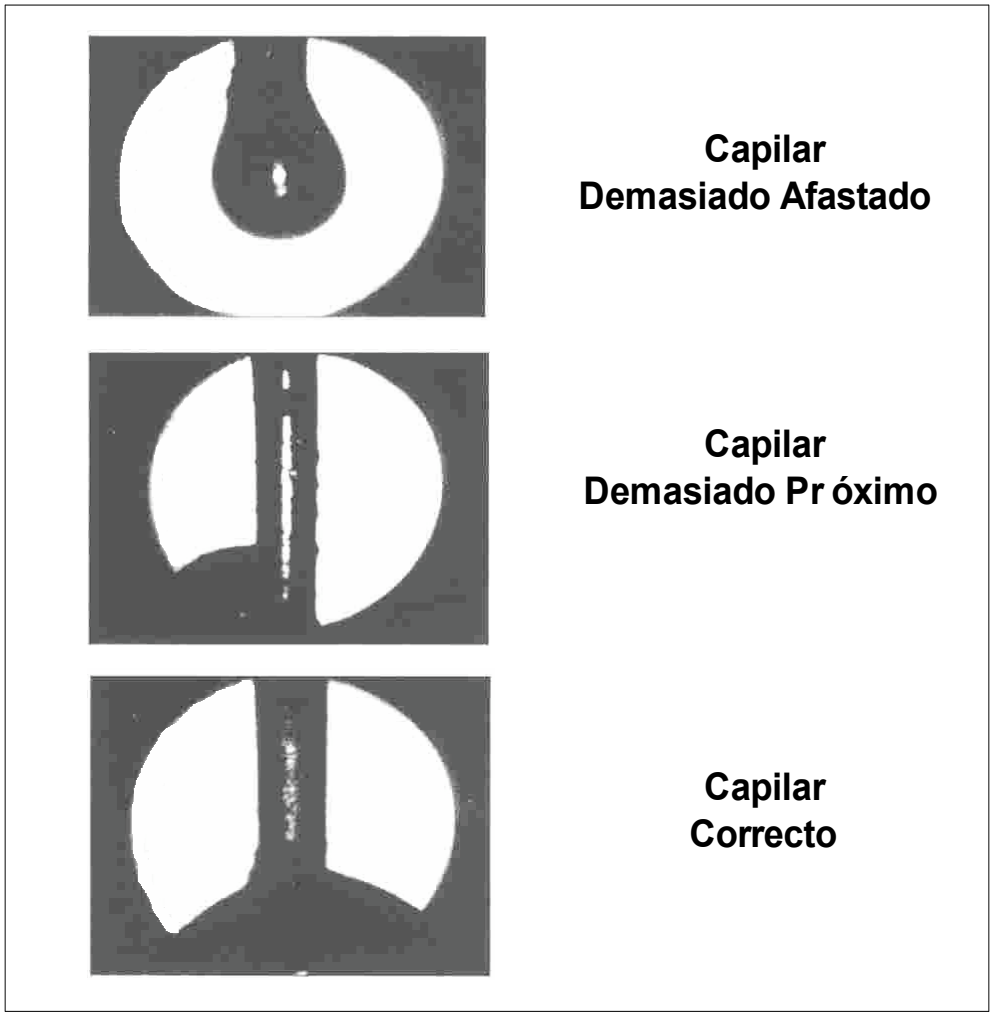


Fig. 5.11. **Posicionamento do capilar do amostrador automático no interior do tubo de grafite, visualização através de um sistema de vídeo incorporado no espectrómetro de absorção atómica (adaptado de ATI Unicam, 1995).**

Durante o trabalho, utilizou-se um espelho de dentista para a visualização da formação, deposição e aquecimento da gota. Nos sistemas mais avançados de absorção atómica é possível incorporar um sistema de vídeo, que permite a monitorização em tempo real e contínuo desta fase e das seguintes, de um modo mais rápido e seguro.

O programa de temperaturas escolhido depende do elemento a analisar e da matriz da amostra.

Um programa típico compreende quatro patamares de temperatura (Fig. 5.12.).

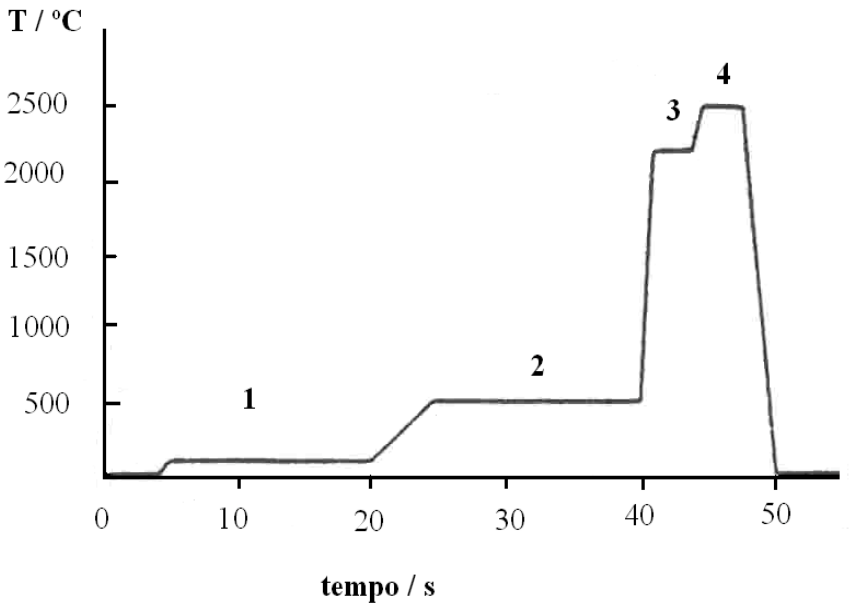


Fig. 5.12. Programa de temperaturas típico de atomização electrotérmica: 1 - secagem, 2 – calcinação ou pirólise, 3 - atomização, 4 – limpeza. Adaptado de Lajunen (1992).

1. Secagem

O principal objectivo desta fase é a secagem da amostra pela remoção do solvente. Tal, é conseguido com um aquecimento a temperaturas superiores ou próximas das temperaturas de ebulição do solvente. Este aquecimento não pode ser brusco, dado que a amostra pode ser espalhada pelo tubo, com implicações directas na diminuição de sensibilidade e reprodutibilidade dos resultados. Assim, por vezes, são usadas rampas de aquecimento, sendo seleccionado o tempo necessário para secar lentamente o solvente.

2. Calcinação ou pirólise

Esta fase tem como objectivo a eliminação dos componentes da matriz. Para tal, tenta-se atingir a máxima temperatura possível sem eliminar o analito. Em alguns casos, para se conseguir melhor sensibilidade, altera-se a química da amostra mediante a incorporação de modificadores químicos.

3. Atomização

Esta fase é a mais importante em termos analíticos. Num curto período de tempo, o tubo de grafite é levado à temperatura de atomização, que varia de elemento para elemento, e é influenciada pela matriz. O sinal é transiente, rápido e será integrado pelo computador.

4. Limpeza

Para evitar o efeito de memória entre as amostras, aplica-se, durante um tempo de 2 a 3 segundos, uma temperatura elevada. Assim, serão eliminados os restos de analito não atomizado ou óxidos difíceis de vaporizar.

5.5.2. INSTRUMENTAÇÃO

A instrumentação básica de um espectrómetro de absorção atómica com câmara de grafite encontra-se representada na figura 5.13.

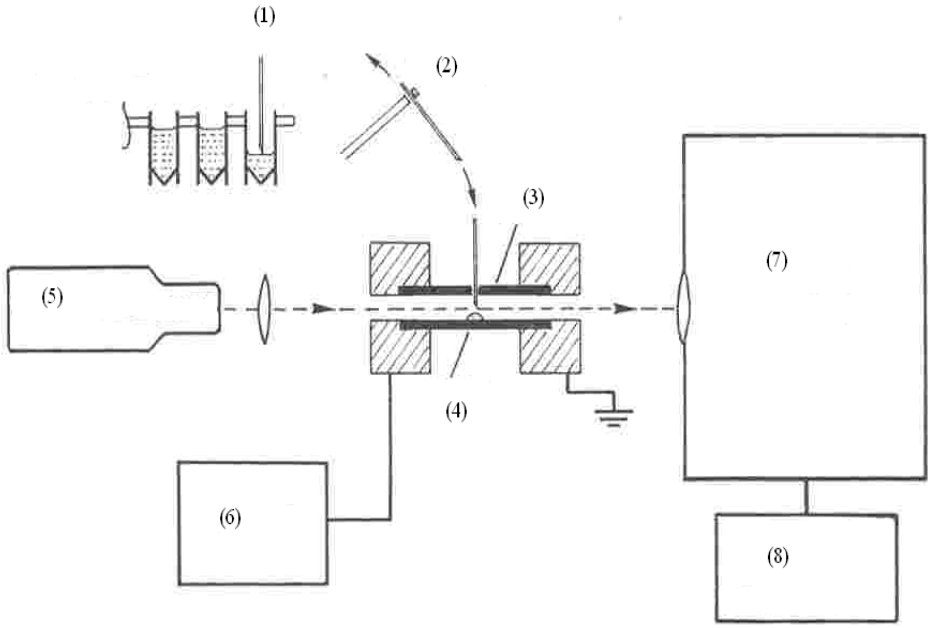


Fig. 5.13. Esquema de um equipamento de GFAAS: (1) amostrador automático, (2) capilar com amostra, (3) tubo de grafite/forno, (4) amostra, (5) fonte de radiação: lâmpada de cátodo oco, (6) potência de abastecimento do forno, (7) monocromador, (8) detector. Adaptado de Riddle (1993).

A amostra é introduzida, com o auxílio de um capilar, na câmara de grafite, sendo submetida a um aquecimento progressivo.

O atomizador de câmara de grafite encontra-se representado na figura 5.14., sendo composto basicamente pelos seguintes elementos: tubo de grafite, ligações eléctricas, armazenamento de água fria e fluxo de gás interno e externo.

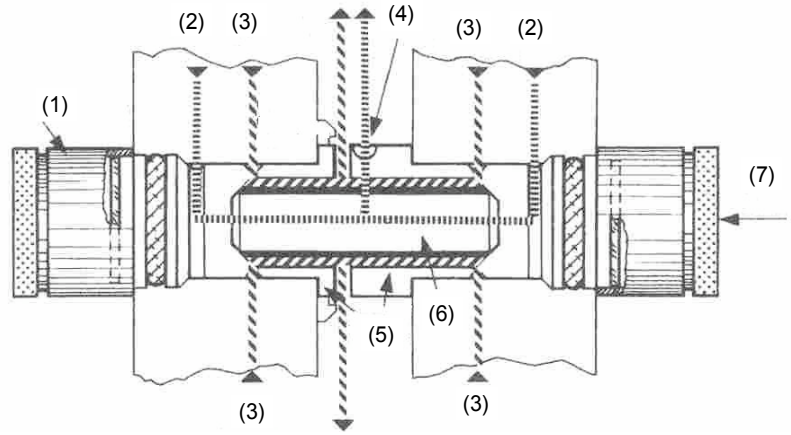


Fig. 5.14. Atomizador de câmara de grafite: (1) janela, (2) fluxo de gás interno, (3) fluxo de gás externo, (4) local de injecção da amostra, (5) contactos de grafite, (6) tubo de grafite, (7) feixe de luz. Adaptado de Csuros & Csuros (2002).

Os componentes de grafite encontram-se revestidos interna e externamente por um fluxo de gás, árgon (ou azoto), que minimiza a oxidação do forno de grafite e previne a formação de óxidos metálicos. O fluxo de gás também purga os vapores gerados pela matriz das amostras (Viets & O'Leary, 1992; Csuros & Csuros, 2002).

5.5.3. Caracterização do material da câmara de atomização

A escolha câmara de atomização (cuvete) é de extrema importância para a obtenção de bons resultados analíticos. Antes de iniciar o trabalho analítico, foi efectuado um estudo aprofundado sobre este tema, uma vez que as amostras em estudo apresentam uma matriz muito complexa, exigindo o uso de câmaras de atomização de boa qualidade.

Os principais parâmetros a que devem obedecer os materiais utilizados no fabrico da câmara de atomização são, entre outros (Morton & Roberts, 1993):

- condutividades térmica e eléctrica elevadas;
- inércia química;
- níveis baixos de impurezas metálicas;
- baixa porosidade;

- expansão térmica baixa e rigidez elevada;
- ponto de fusão elevado.

Entre os materiais disponíveis, a grafite é o que mais se aproxima destas especificações. Para o fabrico dos atomizadores, a grafite é produzida a partir de carvão misturado com agentes ligantes tais como resinas fenólicas, resina de pinheiro ou alcatrão. Fazem-se extrusões do material, que depois é aquecido lentamente até 1300 ºC em atmosfera inerte. Nestas condições, o material de ligação é queimado, formando-se carbono sólido amorfo, que é duro e quebradiço. Para obter grafite é ainda necessário efectuar um processo de electrografitização, em que o carbono amorfo é aquecido, por efeito de Joule, a 3000 ºC, formando-se então um verdadeiro material de grafite com as características acima referidas. As câmaras fabricadas deste modo designam-se por **câmaras de electrografite** (CEG) (Morton & Roberts, 1993).

Para reduzir a porosidade da electrografite, que é responsável por perdas importantes de determinando durante o período de atomização e por oclusões de óxidos e carbonetos refractários, recorre-se, normalmente, ao recobrimento pirolítico da mesma, obtendo-se as chamadas **câmaras pirolíticas** (CP) (Morton & Roberts, 1993). A figura 5.15. mostra a diferença entre o carácter poroso e desordenado da electrografite e a estrutura regular do recobrimento.

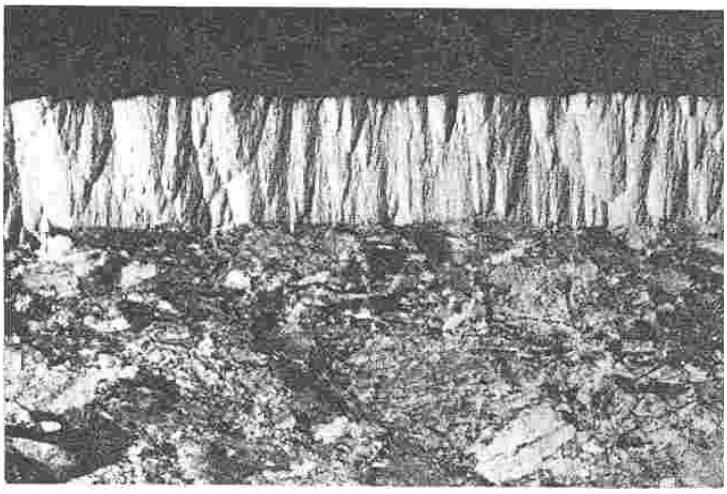


Fig. 5.15. Fotografia da estrutura da grafite pirolítica sobre electrografite (adaptado de Lajunen, 1992).

O material pirolítico tem baixa permeabilidade gasosa e boa resistência química ao ataque. L'vov (*in* Morton & Roberts, 1993) mostrou que as perdas de vapor de determinando se reduziam de 33% em CP relativamente à CEG, o que faz aumentar o tempo de residência dos átomos na câmara e, portanto, a sensibilidade do método. Além disso, as CP resistem 10

vezes mais à oxidação, bem como a outros ataques químicos, reduzindo a formação de carbonetos. Porém, apresentam o inconveniente do revestimento ir desaparecendo progressivamente, expondo a electrografite. No sentido de melhorar algumas características das câmaras, surgiram, nos últimos anos, as **câmaras totalmente pirolíticas** (CTP). Na figura 5.16. encontra-se representada uma secção de uma câmara totalmente pirolítica.

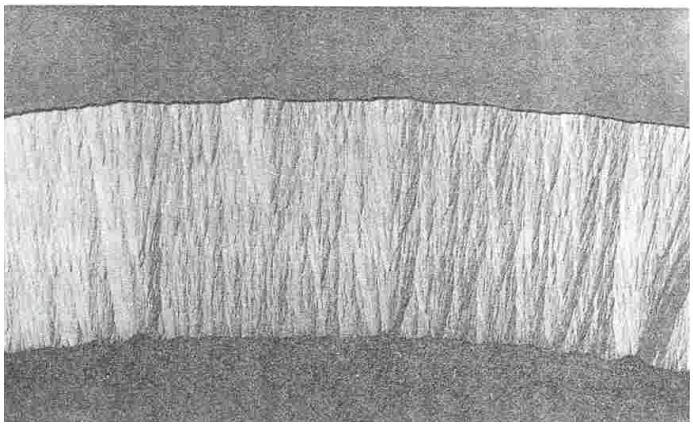


Fig. 5.16. Fotografia de uma secção de uma câmara totalmente pirolítica (adaptado de Lajunen, 1992).

Na figura 5.17. mostram-se os sinais referentes à atomização nos diferentes tipos de câmara.

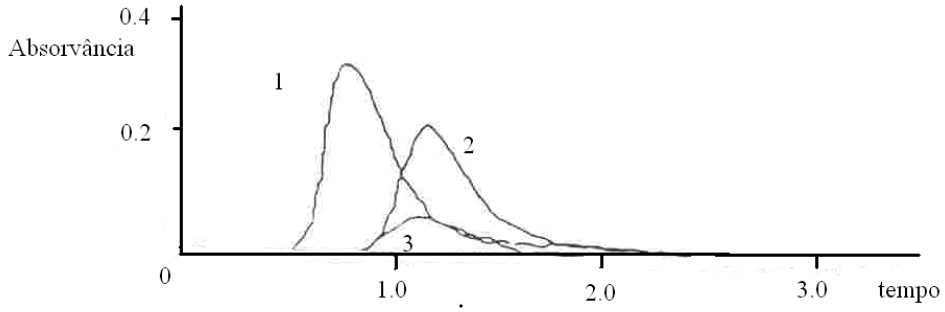


Fig. 5.17. Sinais referentes à atomização, a 2800 ºC, de uma quantidade de Pt em (1) CTP, (2) CP e (3) CEG. Adaptado de Lajunen (1992).

No trabalho desenvolvido foram usadas câmaras ou cuvetes de electrografite revestidas piroliticamente / ELC (*Extended Life Cuvette*).

5.5.4. INTERFERÊNCIAS

Em GFAAS, as interferências podem ser classificadas em físicas e químicas. Alterações na introdução da amostra, sinais de *background* (absorção não específica) e efeitos de memória podem originar efeitos de interferência física. As interferências químicas podem ser causadas por reacção do analito com os componentes da matriz, com o material do tubo ou com o gás inerte (Lajunen, 1992).

Interferências físicas

As situações mais problemáticas quanto a interferências físicas ocorrem quando as amostras apresentam viscosidades ou tensões superficiais muito diferentes das soluções padrão usadas na calibração. Nestas condições, podem ocorrer diferenças nos volumes efectivamente injectados ou diferenças no modo de dispersão das soluções durante a fase de secagem do processo de atomização. Para minimizar estes problemas, deve-se proceder, conforme os casos, à prévia destruição total ou parcial da matriz ou, apenas, à diluição da mesma. Durante o trabalho, este tipo de interferência foi minimizado através da diluição da matriz das amostras.

A absorção não específica ou absorção de fundo ocorre muito frequentemente em GFAAS. A existência, no atomizador, de outras espécies que absorvem radiação (absorções moleculares) no mesmo comprimento de onda do determinando originará resultados analíticos inexactos, se não for feita a devida correcção. Para eliminar este tipo de interferências, que são particularmente importantes na região do UV, o equipamento de absorção atómica existente no Laboratório de Espectrometria do DCT-UM dispõe de um sistema de correcção de fundo muito eficaz.

Os efeitos de memória são devidos a uma atomização incompleta ou a uma má limpeza do tubo, podendo ocorrer um aumento da resposta do analito em análises posteriores. Este efeito é minimizado usando temperatura elevada de atomização e de limpeza do tubo, ou seleccionando tempos longos para estas fases (Lajunen, 1992). Durante o trabalho, este tipo de interferência foi minimizado através do uso de temperaturas de atomização e de limpeza elevadas.

Interferências químicas

A interferência química mais frequente é a formação de monohalogenetos gasosos, provenientes da matriz da amostra. Tal facto resulta da presença de halogenetos, em particular cloretos, na maioria das amostras que são analisadas por AAS, nomeadamente as de origem geológica.

Os efeitos de interferência química resultam da existência de quantidades elevadas de anião cloreto na amostra, o qual origina a formação de cloretos voláteis do determinando, parte dos quais se podem perder na fase de pirólise e cuja dissociação na fase de atomização é incompleta, afectando, portanto, a absorção do determinando.

O principal meio de minimizar ou mesmo eliminar este tipo de interferências é o uso de modificadores químicos.

Os modificadores químicos são frequentemente usados com o objectivo de remover as interferências de matriz. É desejável que a matriz seja mais volátil que o analito, para que durante a fase de pirólise todos os componentes da matriz da amostra sejam volatilizados e os átomos de analito não sejam perdidos (Csuros & Csuros, 2000). Assim, o principal objectivo do modificador químico é estabilizar o analito para altas temperaturas e tornar possível a remoção dos interferentes antes da fase de atomização do analito (Bermejo-Barrera, 1996). Mas, para que um modificador seja aceite, deve cumprir uma série de requisitos: (1) ser efectivo para um grande número de analitos, (2) exibir ou causar baixa absorção de fundo, (3) não reduzir o tempo de vida dos tubos de grafite, (4) ter elevada pureza, (5) ter baixa toxicidade, (6) ter robustez de acção, (7) ser eficaz no programa de temperatura escolhido (Schlemmer & Welz, 1986; Bermejo-Barrera, 1996; Volynsky, 1998).

Neste trabalho foi desenvolvido um método para determinação de chumbo em sedimentos fluviais por espectrometria de absorção atómica com câmara de grafite, usando como modificador químico o dihidrogenofosfato de amónio ($(NH_4)H_2PO_4$).

Uma série de substâncias têm sido propostas para serem usadas como modificadores químicos na determinação de chumbo por GFAAS. Os mais comuns são: $(NH_4)H_2PO_4$ (Slavin et al, 1984); mistura de paládio + nitrato de magnésio ($Pd+Mg(NO_3)_2$) (Schlemmer & Welz, 1986); hidrogenofosfato de amónio ($(NH_4)_2HPO_4$) (Lajunen, 1992); $Mg(NO_3)_2$ (Miller-Ihli & Greene, 1993); Pd e seus compostos (Xiao-Quan & Bei, 1995; Bermejo-Barrera, 1996); mistura de paládio+nitrato de estrôncio (Bin & Zhe-Ming, 1996); paládio/magnésio (Pd/Mg), ácido oxálico (Carbon & Le Bihan, 1996); misturas de níquel+paládio+ácido tartárico e de

níquel+platina+ácido tartárico (Acar et al., 1999); mistura de tungsténio (W)+paládio+ácido tartárico (Acar et al., 2000); $(NH_4)H_2PO_4$, NH_4NO_3, H_3PO_4, $MgNO_3$, $LaCl_3$, ácido ascórbico, ácido oxálico (Csuros & Csuros, 2000); mistura de níquel+paládio+dihidrogenofosfato de amónio (Ni+Pd+$(NH_4)_2HPO_4$) (Acar, 2001); paládio coloidal (Volynsky et al., 2001); ácido fluorídrico (Carbon, 2002); grupo metais de platina (*platinum group metals*, PGMs): paládio (Pd), platina (Pt), ródio (Rh), ruténio (Ru) e irídio (Ir) (Volynsky, 2004).

Os sedimentos, sendo amostras de matriz complexa, são difíceis de tratar e analisar. Os modificadores químicos propostos para serem usados na determinação de chumbo por GFAAS neste tipo de amostras são: Pd (Bermejo-Barrera, 1996), mistura de escândio+paládio+nitrato de amónio (Sc + Pd + NH_4NO_3) (Acar, 2005), entre outros.

O $(NH_4)H_2PO_4$ foi escolhido como modificador químico pois reduz os efeitos de matriz, desempenhando uma dupla função. O anião fosfato forma, com o elemento em estudo, fosfatos termicamente estáveis, os quais constituem também um factor inibidor de perdas de determinando na fase de pirólise. Segundo Slavin et al. (1984), o fosfato estabiliza o chumbo para temperaturas elevadas.

5.5.5. VANTAGENS E PROBLEMAS

Em seguida, enunciam-se algumas vantagens e alguns dos problemas mais comuns associados ao método de GFAAS (Riddle, 1993; Canto Machado, 1994; Tyler, 1995; Csuros & Csuros, 2002).

Vantagens:

- permite o doseamento de todos os elementos, com concentrações de μg/L, directamente sobre as amostras;
- limites de detecção muito baixos;
- necessita de volumes mínimos de amostra.

Problemas:

- interferências de matriz;
- interferências de *background*;
- gama de concentração de trabalho muito restrita;
- altamente vulnerável a fenómenos de contaminação.

5.6. VALIDAÇÃO E CONTROLO DA QUALIDADE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS

A qualidade analítica de uma metodologia é detalhadamente avaliada na fase da sua montagem e optimização através do processo de validação do método, forma genérica de designar todas as averiguações efectuadas de molde a demonstrar que o método, nas condições em que é praticado, exibe as características necessárias para fornecer resultados com qualidade adequada para os fins a que se destinam. A validação de uma metodologia consiste no estudo detalhado do processo subjacente à sua implementação (Wells, 1998). Green (1996) define a validação como o processo de reconhecimento de que um método analítico é aceitável para os objectivos projectados.

O grau de confiança nos resultados fornecidos pelo método analítico é expresso em termos de probabilidade estatística, a qual é definida durante o processo de validação. Este processo conduz a critérios de aceitação/rejeição dos resultados obtidos.

Na validação dos métodos analíticos escolhidos foram estudados vários parâmetros como a linearidade e a gama analítica, o limite de detecção e de quantificação, a precisão, a exactidão e a selectividade (Taylor, 1981; Keith et al., 1983; Taylor, 1983; Nicholson, 1989; IPQ, 2000; Castro, 2004).

Os laboratórios devem estabelecer um sistema rigoroso de controlo de qualidade.

No trabalho desenvolvido foi efectuado o controlo da qualidade, de modo a garantir e controlar a exactidão dos resultados (controlo de qualidade externo) e garantir e controlar a precisão dos mesmos (controlo de qualidade interno) (IPQ, 2000; Castro, 2004).

5.6.1. PARÂMETROS ESTUDADOS NO PROCESSO DE VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS

5.6.1.1. LINEARIDADE E GAMA ANALÍTICA

A linearidade e a gama analítica foram definidas através do traçado de curvas de calibração, sendo utilizado o valor do coeficiente de correlação (r), para avaliar o grau de linearidade dos pontos experimentais. Este valor, para uma recta traçada com um branco e pelo menos três padrões, deve apresentar valores iguais ou superiores a 0,9990 (Castro, 2001).

Nos métodos analíticos estudados foi usada a técnica de análise quantitativa com recta de calibração, sendo efectuado um controlo apertado das seguintes etapas:

- selecção do comprimento de onda mais apropriado;
- definição da zona linear de trabalho;
- definição da zona de concentrações de trabalho, consoante as concentrações previstas para as amostras;
- preparação cuidada das soluções padrão de calibração;
- tratamento das amostras (diluição ou pré-concentração), quando necessário, por forma a que as suas concentrações se encontrem dentro da gama de concentrações dos padrões;
- traçado diário da recta de calibração;
- controlo da recta de calibração durante o período de trabalho, através do uso de dois padrões de controlo (dos dois pontos extremos da recta) e do branco, no caso de gama baixa, para controlo das contaminações;
- uso de padrões de controlo independentes dos de verificação da calibração.

O critério de aceitação estabelecido para este parâmetro nos métodos estudados foi o seguinte:

- coeficiente de correlação $\geq 0{,}9995$, conjuntamente com a representação e a visualização gráfica da recta de calibração.

5.6.1.2. LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

A estimativa destes parâmetros é ainda objecto de discussão, não se encontrando, actualmente, o seu cálculo devidamente uniformizado. Encontram-se vários tipos de modelos passíveis de serem usados na determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) (Thompson, 1992; Miller & Miller, 1993; Kaus, 1998; IPQ, 2000).

Do ponto de vista analítico, a presença de uma espécie num sistema pode ser encarada de forma qualitativa, se for conhecida a quantidade mínima que pode ser detectada, ou de forma quantitativa, se for conhecida a quantidade mínima que pode ser determinada com exactidão e reprodutibilidade, aplicando a metodologia seleccionada.

O LD corresponde ao início da zona em que é possível distinguir com confiança estatística (95%) o sinal do branco do sinal da amostra, sendo possível indicar se o analito

está ou não presente. A gama entre LD e LQ é considerada como sendo uma zona de detecção qualitativa. O LQ é usado como início da zona de detecção quantitativa (IPQ, 2000). Assim sendo, o valor mínimo de concentração, usado para marcar a fronteira entre a detecção qualitativa e as medições quantitativas, é fornecido pelo LQ (Funk et al., 1995). Na figura 5.18. evidenciam-se as três principais zonas analíticas.

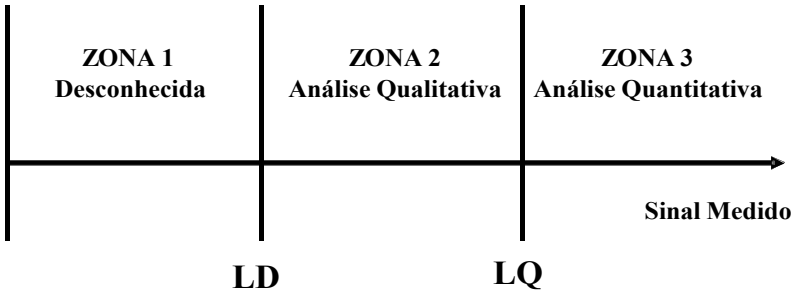


Fig. 5.18. As três principais zonas analíticas (adaptado de Curie, 1968).

Os limites de detecção foram estimados usando a expressão:

$$LD = x_0 + 3{,}3 \times s_0$$

onde x_0 representa, no mínimo, o valor médio de 30 leituras de branco e s_0 o respectivo desvio padrão (IPQ, 2000).

Os limites de quantificação foram estimados usando a expressão:

$$LQ = x_0 + 10 \times s_0$$

onde x_0 representa, no mínimo, o valor médio de 30 leituras de branco e s_0 o respectivo desvio padrão (IPQ, 2000).

Na determinação dos limites de detecção e de quantificação, nos vários métodos usados e para cada elemento estudado, foram efectuados, no mínimo, 30 ensaios com um branco representativo (ensaios preparados de forma independente e lidos ao longo de vários dias).

5.6.1.3. PRECISÃO

A precisão corresponde à concordância entre os resultados obtidos por aplicação do mesmo método de ensaio, várias vezes em condições definidas.

Actualmente o termo precisão tem sido substituído pelos dois termos seguintes: repetibilidade e reprodutibilidade (Relacre, 1996; Castro, 2004).

A repetibilidade mede o grau de variabilidade dos valores numéricos encontrados para a mesma amostra, no decurso de vários ensaios realizados em condições semelhantes, como por exemplo: mesmo laboratório, operador e equipamento, durante um curto espaço de tempo (Relacre, 1996; Castro, 2004).

A reprodutibilidade mede o grau de variabilidade dos valores numéricos encontrados para a mesma amostra, no decurso de vários ensaios realizados em condições diferentes, como por exemplo: dias diferentes (Relacre, 1996; Castro, 2004).

É quantitativamente avaliada através do desvio padrão associado à média de um conjunto de ensaios independentes, sendo expressa em desvio padrão relativo (DPR) ou *relative standard deviation* (RSD).

$$DPR = RSD = (s/\bar{x}) \times 100\ \%$$

onde $\bar{x}$ é o valor médio do conjunto de resultados e s é o desvio padrão associado (Castro, 2004).

Trata-se de um parâmetro estatístico que quantifica a incidência de erros acidentais ou aleatórios num dado resultado analítico. Estes erros ocorrem de acordo com as leis do acaso e são responsáveis pelo aparecimento de uma dispersão de valores isolados em torno do valor médio respectivo.

A reprodutibilidade de um método será tanto melhor quanto menor for o valor do desvio padrão relativo, uma vez que a dispersão dos resultados em torno do valor médio é mais reduzida.

O critério de aceitação estabelecido para este parâmetro nos métodos estudados foi o seguinte:

- DPR para padrões de calibração ≤ 5 %;
- DPR para amostras < 10 %.

As leituras referentes às soluções de brancos, aos padrões e às amostras foram efectuadas em triplicado.

5.6.1.4. EXACTIDÃO

A exactidão de um método fornece uma medida da aproximação entre o resultado experimental e o verdadeiro valor da grandeza que está a ser avaliada.

Expressa-se em termos de um erro relativo associado à média de um conjunto de resultados experimentais ($\bar{x}$), quando comparada com o verdadeiro valor ($x_{ref.}$):

$$\text{Erro relativo} = [(\bar{x} - x_{ref.}) / x_{ref.}] \times 100\ \%$$

podendo exibir um sinal negativo quando o valor experimental é inferior ao valor verdadeiro e sinal positivo na situação inversa (Castro, 2004).

A exactidão de um método, ou de um resultado, está condicionada pela existência de erros sistemáticos, que se manifestam sempre da mesma maneira, para um dado conjunto de ensaios independentes. Os erros sistemáticos obedecem a causas determinadas e conduzem ao aparecimento de resultados significativamente afastados do seu valor verdadeiro. Este tipo de erros pode ser classificado em três categorias: erros instrumentais, onde são incluídas a má calibração do material e as avarias parciais do equipamento; erros operativos, onde são incluídos alguns erros dos analistas e erros de método, associados a interferências de ordem variada, à existência de reacções secundárias no processo analítico.

Os erros sistemáticos põem em causa a veracidade do resultado experimental, provocando o seu afastamento relativamente ao verdadeiro valor presente na amostra analisada. Estes erros podem ser minimizados pela utilização de ensaios em branco e pela aplicação da mesma metodologia na preparação das soluções padrão de calibração.

A exactidão dos métodos analíticos estudados foi avaliada pela análise de materiais de referência certificados (MRCs) e pelo uso de ensaios de recuperação.

5.6.1.5. SELECTIVIDADE

A selectividade do método é a capacidade deste para identificar e distinguir um determinado analito numa mistura complexa, sem interferência de outros componentes (Castro, 1999).

Este parâmetro foi devidamente controlado pela análise de amostras adicionadas do analito, pela análise de padrões puros, onde foram introduzidas quantidades conhecidas de possíveis interferentes.

5.6.2. CONTROLO DA QUALIDADE INTERNO

O controlo da qualidade interno permite controlar continuamente a precisão dos resultados. Este controlo deve ser baseado em (IPQ, 2000; Castro, 2004):

- uso de materiais de referência internos (MRIs);
- uso de técnicas complementares de controlo da qualidade, como: a análise de ensaios de brancos em paralelo com as amostras, as análises em duplicado, o uso de padrões de controlo, os ensaios de recuperação, o uso do método de adição padrão, o controlo de curvas de calibração, a comparação de resultados obtidos por diferentes técnicas analíticas, entre outras;
- uso de cartas de controlo estatístico.

5.6.2.1. MATERIAIS DE REFERÊNCIA INTERNOS (MRIs)

Os materiais de referência internos (MRIs) podem ser: uma amostra de controlo (de um lote reservado para essa finalidade), um padrão de matriz ajustada com as amostras ou um padrão semelhante (mas independente dos de calibração) (IPQ, 2000; Castro, 2004).

Os MRIs usados, no decorrer do trabalho, eram padrões de controlo, independentes dos de calibração, com uma concentração dentro da gama analítica estudada. O uso destas soluções permitiu avaliar a variabilidade da metodologia e controlar a calibração.

Durante este trabalho, foi efectuada a análise do MRI após cada calibração e entre cada conjunto de nove amostras analisadas no mesmo dia.

5.6.2.2. ENSAIOS DE BRANCOS

A utilização de ensaios de brancos é uma ferramenta de controlo da qualidade interno, que deve ser utilizada com o objectivo de avaliar a incidência de contaminações provenientes do material, dos reagentes e da atmosfera do laboratório, e também de todo o processo de manipulação. O ensaio em branco contém todos os reagentes, excepto a amostra, e é submetido em paralelo a todo o processo analítico das amostras.

A limpeza e a descontaminação de todo o material de laboratório, usado no decurso dos ensaios, é de grande importância dado que os teores dos elementos a determinar podem ser facilmente alterados por possíveis fontes de contaminação. O material utilizado foi submetido a um processo de descontaminação, por contacto demorado com ácido nítrico diluído (20 %) e, posteriormente, estabilizado com água de qualidade tipo I (resistividade eléctrica de 18 MΩ.cm). Sempre que possível foi usado material descartável de qualidade.

Todos os compostos adicionados às amostras ou utilizados na preparação de padrões são fonte potencial de contaminação. A água utilizada na preparação das soluções deve ser ultrapura, de qualidade tipo I e todos os reagentes usados durante a análise devem ser de qualidade *suprapur* ou equivalente. Neste trabalho, estes critérios foram devidamente seguidos.

As condições ambientais em que as análises são efectuadas devem ser cuidadosamente ponderadas, uma vez que a existência de vapores e poeiras na atmosfera do laboratório pode contribuir para alterar a concentração de certos elementos vestigiais. Assim sendo, é importante que o ar do laboratório seja o mais limpo possível.

Os ensaios de brancos permitem, também, controlar (indirectamente) o limite de detecção e/ou de quantificação.

Durante este trabalho, foi efectuado um ensaio de branco para cada conjunto de amostras analisadas no mesmo dia.

5.6.2.3. ENSAIOS EM DUPLICADO

Os ensaios em duplicado são uma ferramenta muito importante de controlo da qualidade interno, pelo que devem estar sempre presentes em qualquer ensaio de quantificação. Este ensaio consiste na preparação, independente, de dois ensaios da mesma amostra. Os ensaios em duplicado fornecem informação adequada sobre a homogeneidade das amostras em estudo, o modo como decorreram as fases prévias de preparação das amostras e o estado de descontaminação do material usado. Quando são avaliados em diferentes calibrações analíticas ainda fornecem informações sobre a estabilidade do sistema instrumental durante a fase de quantificação.

Para duas preparações diferentes da mesma amostra, a coerência dos resultados encontrados foi avaliada mediante o cálculo de um afastamento percentual entre dois valores experimentais:

$$\% \text{ Afastamento} = [(C_1-C_2) / ((C_1+C_2)/2)] \times 100$$

onde C_1 e C_2 são as concentrações lidas no mesmo dia referentes a duas preparações, independentes, da mesma amostra.

O critério de aceitação estabelecido para este parâmetro nos métodos estudados foi o seguinte:

- Afastamento entre duplicados $\leq$ 10 %.

Durante este trabalho, foi efectuada a análise de, pelo menos, um ensaio em duplicado entre cada conjunto de nove amostras analisadas no mesmo dia.

5.6.2.4. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO

A realização sistemática de ensaios de recuperação é outra ferramenta que deve ser utilizada, com o fim de identificar possíveis casos em que as matrizes das amostras causam o aparecimento de situações de depressão dos sinais dos analitos. O aumento adequado da concentração dos elementos presentes nas amostras, pela adição de uma alíquota do analito com concentração conhecida, proporciona informação fiável acerca de possíveis interferências de matriz.

A escolha da concentração de reforço foi muito criteriosa, uma vez que, para determinados elementos, se trabalhou em zonas de quantificação de apenas alguns μg/L.

Os resultados obtidos foram avaliados através do cálculo da % de recuperação, sendo utilizados os dados experimentais obtidos e a concentração nominal do padrão adicionado:

$$\% \text{ Recuperação} = [(A_{adic.}-A) / P_{adic.}] \times 100$$

onde A é o valor obtido para a amostra inicial, $A_{adic.}$ é o valor obtido para a amostra reforçada e $P_{adic.}$ é a concentração do padrão adicionado.

O critério de aceitação estabelecido para este parâmetro nos métodos estudados foi o seguinte:

- % Recuperação entre 95-105 %.

Durante este trabalho, foi efectuada a análise de, pelo menos, um ensaio de recuperação entre cada conjunto de nove amostras analisadas no mesmo dia.

5.6.3. CONTROLO DA QUALIDADE EXTERNO

O controlo da qualidade externo permite avaliar pontualmente no tempo a exactidão dos resultados.

As acções de controlo da qualidade externo englobam (IPQ, 2000; Castro, 2004):

- o uso de materiais de referência certificados (MRCs) ou de padrões equivalentes;
- a participação em ensaios interlaboratoriais (EIL).

5.6.3.1. MATERIAIS DE REFERÊNCIA CERTIFICADOS (MRCs) OU PADRÕES EQUIVALENTES

O uso de Materiais de Referência Certificados (MRCs) e de Materiais de Referência (MRs) constitui uma forma de avaliar a exactidão de um método analítico. O MRC e o MR devem ser usados de forma idêntica às amostras, devem apresentar uma matriz semelhante a estas e ser adequado às gamas de trabalho dos métodos em causa.

Segundo o IPQ (2000), "Material de Referência (MR) é um material ou substância com uma ou mais propriedades suficientemente bem estabelecidas para serem usadas na calibração de aparelhos, avaliação de um método de análise ou atribuição de valores a materiais"; "Material de Referência Certificado (MRC) é um material de referência em que os valores de uma ou mais propriedades foram certificados por um processo tecnicamente válido, e que é acompanhado um certificado emitido por um organismo de certificação".

Os MRCs utilizados devem ser produzidos por entidades de reconhecida credibilidade (Kane, 1992).

Neste trabalho utilizaram-se dois MRCs de sedimentos: um do *National Research Council Canada* (NRCC) - NRCC MESS 3 e outro do *Bureau of Community Reference* (BCR) - BCR 320, e um MR internacional de um granito do *Groupe International de Travail "Etalons analytiques des minéraux, minerais et roches"* - *International Working Group "Analytical standards of minerals, ores and rocks"* (GIT-IWG) - AC-E.

Os certificados do MRC NRCC MESS 3 e do MR AC-E contêm todos os elementos que se pretendia quantificar, com as concentrações e respectivas incertezas, enquanto que o certificado do MRC BCR 320 contém apenas as concentrações e incertezas correspondentes a alguns dos elementos pretendidos.

Após a análise de um MRC e/ou de um MR, o valor obtido deve ser comparado com o valor certificado e deve situar-se dentro do intervalo de incerteza do MRC e/ou do MR. Caso isso não aconteça, deve-se tentar encontrar as causas dos desvios e tentar eliminá-las.

A aceitação e/ou rejeição dos desvios entre os valores experimentais obtidos e os valores que constam nos certificados devem obedecer a critérios objectivos. Neste trabalho, estes critérios foram previamente estipulados de acordo com o grau de qualidade pretendido para os métodos utilizados.

O comportamento dos métodos analíticos para estes materiais foi estudado com base no valor do parâmetro estatístico *Z-score* (Castro, 1999), sendo calculado da seguinte forma:

$$Z\text{-}score = (V_{Exp.} - V_{Ref.}) / s$$

onde $V_{Exp.}$ é o valor experimental, $V_{Ref.}$ é o valor referência e s é o desvio máximo permitido e igual a 5% do valor de referência ou é a sua incerteza caso esta seja conhecida, como é o caso dos MRCs e do MR utilizados. Este parâmetro encontra-se condicionado pelos critérios de aceitação/rejeição estabelecidos:

$$|Z\text{-}score| \leq 1: \text{Bom desempenho}$$
$$1 < |Z\text{-}score| \leq 2: \text{Desempenho duvidoso}$$
$$|Z\text{-}score| > 2: \text{Mau desempenho}$$

Assim, o critério de aceitação estabelecido para os desvios entre os valores experimentais obtidos e os valores que constam nos certificados, nos métodos estudados, foi o seguinte:

- Valores de $|Z\text{-}score| < 2$, para um erro máximo admissível de 5%.

Durante este trabalho, foi efectuada a análise de, pelo menos, um ensaio de um MRC e/ou MR entre cada conjunto de nove amostras analisadas no mesmo dia.