

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM AMOSTRAS
DE CABELO HUMANO POR ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO
ELETROTÉRMICA

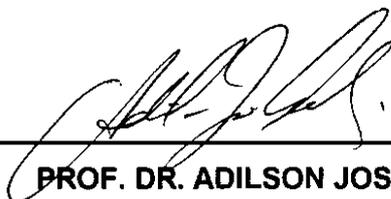
ANDERSON SCHWINGEL RIBEIRO

Florianópolis, março de 1999

**DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM AMOSTRAS DE CABELO HUMANO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO
ELETROTÉRMICA**

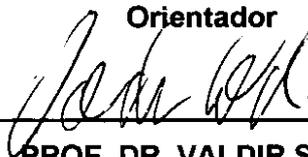
ANDERSON SCHWINGEL RIBEIRO

**ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA E APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO
ORIENTADOR E MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA**



PROF. DR. ADILSON JOSÉ CURTIUS

Orientador

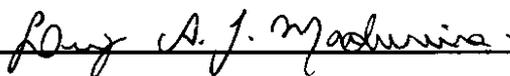


**PROF. DR. VALDIR SOLDI
Coordenador**

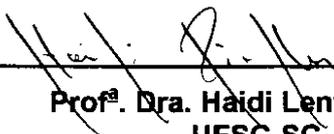
BANCA EXAMINADORA:



**Dra. Dirce Pozebon
CIENTEC-RS**



**Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
UFSC-SC**



**Prof.ª Dra. Haidi Lentz Fiedler
UFSC-SC**

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM AMOSTRAS
DE CABELO HUMANO POR ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO
ELETROTÉRMICA

ANDERSON SCHWINGEL RIBEIRO

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Departamento de Química, da Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em
Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Adilson José Curtius

Florianópolis, março de 1999

Agradecimentos

#1 DEUS;

À minha mãe Enilda Schwingel Ribeiro, que me apoiou em todos os momentos e ao meu pai Valdemar Pereira Ribeiro (in memorian);

Aos meus irmãos Emerson Schwingel Ribeiro (Erm) e Vamerson Schwingel Ribeiro (Varm), que, assim como minha mãe, sempre esteve presente;

À minha avó Marinta Rosa Schwingel (in memorian), minha avó Estefania Ternovisk Ribeiro e demais parentes;

Ao professor Dr. Adilson José Curtius, pelo tempo despendido na orientação desta dissertação;

A Dr. Dirce Pozebon, pelo auxílio no laboratório;

A professora Mestra Sandra Maria Maia, pela revisão deste trabalho;

Em especial a Mariana Antunes Vieira e aos demais colegas da pós-graduação;

E a todos que de alguma forma contribuíram para realização desta dissertação.

Arn.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABELAS.....	iii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	v
ABSTRACT.....	viii
RESUMO.....	ix
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – ASPECTOS FUNDAMENTAIS.....	5
2.1 – Coleta.....	5
2.2 – Lavagem.....	5
2.3 – Solubilização.....	8
2.4 – Técnicas analíticas empregadas para análise de cabelo.....	9
2.4.1 – ETAAS.....	10
2.4.1.1 – Conceito STPF.....	14
2.4.1.2 – Modificador químico.....	14
2.4.2 – ICP-MS.....	16
2.4.2.1 – Interferências em ICP-MS.....	21
2.4.2.2 – Introdução de amostra no plasma	24
3 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 – Condições para a determinação em ETAAS.....	29
3.1.1 – Instrumental e processamento da amostra	29
3.1.2 – Reagentes, soluções e material de referência.....	33
3.1.3 – Preparação das amostras reais.....	34

3.1.3.1 – Coleta das amostras reais de cabelo humano.....	36
3.1.3.2 – Lavagem das amostras reais.....	36
3.1.3.3 – Solubilização em meio de TMAH.....	36
3.1.3.4 – Abertura em meio ácido.....	37
3.1.4 – Lavagem do material de laboratório.....	37
3.1.5 – Procedimento de preparação do material certificado.....	37
3.2 – Condições para as determinações por ICP-MS.....	38
3.2.1 – Instrumental.....	38
3.2.2 – Reagentes, soluções e material de referência.....	40
3.2.3 – Preparação das amostras.....	41
3.2.4 – Correções de interferência isobáricas.....	41
3.2.5 – Procedimento de preparação das amostras.....	41
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 – Otimização das condições do forno.....	42
4.2 – Durabilidade do tubo de grafite.....	51
4.3 – Curvas analíticas e figuras de mérito.....	52
4.4 – Resultados obtidos para a amostra certificada.....	54
4.5 – Amostras reais.....	59
5 – CONCLUSÕES.....	65
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho esquemático de um ETAAS.....	11
Figura 2 – Esquema de uma tocha ICP.....	17
Figura 3 – Diagrama esquemático dos cilindros quadripolares.....	19
Figura 4 – Diagrama esquemático de um ICP-MS.....	21
Figura 5 – Tipos de nebulizadores pneumáticos.....	25
Figura 6 – Desenho esquemático do nebulizador ultra-sônico com fluxo contínuo.....	26
Figura 7 – Desenho esquemático do dessolvatador convencional utilizado no nebulizador ultra-sônico.....	27
Figura 8 – Fluxograma do procedimento empregado na análise de cabelo humano para as determinações de elementos traço.....	35
Figura 9 – Curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Cd.....	44
Figura 10 – Curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Pb.....	45
Figura 11 – Curvas de temperatura de pirólise e atomização para o As.....	46
Figura 12 – Curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Ni.....	47
Figura 13 – Curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Se.....	48

- Figura 14** – Sinais transientes dos analitos nas soluções da amostra e soluções analíticas, em meio de TMAH.....50
- Figura 15** – Durabilidade do tubo de grafite para o Cd.....51
- Figura 16** – Correlação entre valores certificados e obtidos por ETAAS e ICP-MS.....58
- Figura 17** – Correlação entre valores obtidos via PN e USN.....59

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação dos procedimentos mais usuais da lavagem do cabelo humano.....	7
Tabela 2 – Espécies óxido e hidróxidos de cálcio e outros potenciais interferentes de Ni, Cu, Fe e Zn.....	23
Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para as determinações de As, Cd, Ni e Pb por ETAAS.....	29
Tabela 4 – Seqüência de processamento para as determinações de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH e HNO ₃ por ETAAS.....	30
Tabela 5 – Volumes de solução introduzidos no tubo de grafite para a determinação de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH, por ETAAS.....	31
Tabela 6 – Programa de temperatura e tempo para determinação de As por ETAAS.....	31
Tabela 7 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Cd por ETAAS.....	32
Tabela 8 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Ni por ETAAS.....	32
Tabela 9 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Pb por ETAAS.....	33
Tabela 10 – Especificações de desempenho típicas para “Daily performance”.....	39
Tabela 11 – Parâmetros operacionais do instrumento Elan 6000.....	40

Tabela 12 – Limites de detecção e parâmetros das curvas analíticas de As, Cd, Ni e Pb obtidas por ETAAS.....	52
Tabela 13 – Parâmetros das curvas analítica dos analitos em HNO ₃ 0,5% v/v, obtidas por ICP-MS.....	53
Tabela 14 – Concentração obtidas para As, Cd, Ni e Pb na amostra certificada, por ETAAS.....	54
Tabela 15 – Concentração dos analitos na amostra certificada utilizando nebulização pneumática e ultra-sônica para introdução da amostra no ICP-MS.....	56
Tabela 16 – Concentração dos analitos nas amostras reais tratadas com TMAH e medidos por ETAAS.....	60
Tabela 17 – Concentração dos analitos nas amostras reais, tratadas com HNO ₃ e medidas por ICP-MS, utilizando a PN para a introdução da amostra no plasma.....	61
Tabela 18 – Concentração dos analitos nas amostras reais, tratadas com HNO ₃ e medidas por ICP-MS, utilizando a USN para a introdução da amostra no plasma.....	63

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

a – sensibilidade ou inclinação da curva analítica;

AAS – do inglês “atomic absorption spectrometry” (espectrometria de absorção atômica);

AC – do inglês “alternate current” (corrente alternada);

AFS – do inglês “atomic fluorescence spectrometry” (espectrometria de fluorescência atômica);

ASV – do inglês “anodic stripping voltammetry” (voltametria de redissolução anódica);

DC – do inglês “direct current” (corrente contínua);

DCP – do inglês “direct current in the plasma” (plasma de corrente contínua);

ETAAS – do inglês “atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization” (espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica);

ETV - do inglês “electrothermal vaporization” (vaporização eletrotérmica);

FAAS – do inglês “atomic absorption spectrometry with flame atomization” (espectrometria de absorção atômica com atomização em chama);

HCL – do inglês “hollow cathode lamp” (lâmpada de cátodo oco);

HPLC - do inglês “high performance liquid chromatography” (cromatografia líquida de alta eficiência);

IC – intervalo de concentração;

IAEA – do inglês “International Atomic Energy Agency” (Agência Internacional de Energia Atômica);

ICP – do inglês “inductively coupled plasma” (plasma indutivamente acoplado);

ICP OES – do inglês “inductively coupled plasma optical emission spectrometry” (espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado);

ICP-MS – do inglês “inductively coupled plasma mass spectrometry” (espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado);

LA - do inglês “laser ablation” (desgaste a laser);

LD – limite de detecção;

m₀ – massa característica;

NAA – do inglês “neutron activation analysis” (análise por ativação de nêutron);

PN – do inglês “pneumatic nebulisation” (nebulização pneumática);

USN – do inglês “ultra-sonic nebulisation” (nebulização ultra-sônica);

V_C – valor certificado;

V_E – valor encontrado;

R – coeficiente de correlação linear;

RF – do inglês “radiate frequency” (radiofrequência);

RIA – do inglês “Radioimmunoassay” (Radioimunoensaio);

RSD - do inglês “relative standard deviation” (desvio padrão relativo);

STPF – do inglês “Stabilized Temperature Platform Furnace” (forno-plataforma de temperatura estabilizada);

T_a – temperatura de atomização;

T_p – temperatura de pirólise;

TMAH – do inglês “tetramethylammonium hydroxide” (hidróxido de tetrametilamônio);

TEAH – do inglês “tetraethylammonium hydroxide” (hidróxido de tetraetilamônio);

XRFA – do inglês “X-ray fluorescence analysis” (análise por fluorescência de raios-X).

ABSTRACT

A method for the determination of As, Cd, Ni and Pb in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry, using the Stabilized Temperature Platform Furnace (STPF) concept is described. The proposed method uses tetramethylammonium hydroxide (TMAH) to solubilize the biological sample, adding 500 μL of 25 % m/v TMAH to 125 mg of the sample. The results are compared to the ones obtained by another procedure described in the literature, using dissolution in an acid medium. The temperature program for the furnace was optimized for each investigated analyte. The transient signals obtained for the analytical solutions were very similar to the ones for the sample solution, making possible the calibration by the analytical curve. The concentrations of As, Cd, Ni and Pb in the certified sample (GBW 09101 from the Shanghai Institute of Nuclear Research, China) were in agreement with the certified values, except for Ni in the acid medium. Arsenic was not determined in acid medium because its concentration was below the detection limit. In the TMAH medium, the precision was better and detection limits were 0.35, 0.009, 0.14 and 0.47 $\mu\text{g/g}$, respectively, close to the ones in the acid medium. Real samples were properly collected and washed, being submitted to the analysis in the TMAH medium by ETAAS and in the acid medium by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), using pneumatic and ultrasonic nebulization. The results for the real samples were compared to the reference ranges proposed in the literature. The proposed method is rapid for the sample preparation, with low sample and chemicals consumption, needs less glassware, is less prone to contamination and to losses of volatile analytes and allows the quantification of Cd, Ni, Pb and probably of other non-investigated analytes. For As, the method can only be applied to individuals exposed to contamination by the metal.

RESUMO

Apresenta-se um método para a determinação de As, Cd, Ni e Pb em amostra de cabelo humano por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (ETAAS) empregando o conceito STPF (Forno-Plataforma de temperatura estabilizada). O método proposto emprega o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) para a solubilização da amostra biológica, sendo que 125 mg da amostra são solubilizados com 500 μ L de TMAH 25% m/v. Os resultados são comparados com os obtidos por outro método descrito na literatura, que usa dissolução em meio ácido. O programa de temperatura do forno foi otimizado para cada analito investigado. Os sinais transientes, obtidos para as soluções analíticas, foram muito semelhantes aos da amostra, o que possibilitou a calibração pelo método da curva analítica. As concentrações de As, Cd, Ni e Pb na amostra certificada (GBW 09101, proveniente do Instituto de Pesquisa Nuclear de Shanghai, China) foram concordantes com os valores certificados, exceto para o Ni em meio ácido. O As não foi determinado em meio ácido, por ter a concentração abaixo do limite de detecção. No meio de TMAH a precisão foi melhor e os limites de detecção para As, Cd, Ni e Pb foram de 0,35; 0,009; 0,14 e 0,47 μ g/g respectivamente, ficando próximos aos obtidos no meio ácido. Amostras reais foram adequadamente coletadas e lavadas, sendo submetidas à análise em meio de TMAH por ETAAS e no meio ácido por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) via nebulização pneumática e ultrassônica. Os resultados para as amostras reais foram comparados com intervalos de referência propostos na literatura. O método proposto é rápido na preparação da amostra, com baixo consumo de reagentes e amostra, emprega pouca vidraria, apresenta menor possibilidade de contaminação e perdas dos analitos mais voláteis, e permite a quantificação na amostras reais de Cd, Ni, Pb e provavelmente de outros analitos não investigados. Para o As, o método só é aplicável em indivíduos expostos à contaminação pelo metal.

1 – INTRODUÇÃO

O primeiro caso de determinação de elemento traço em cabelo humano foi publicado por Hoppe, em 1858, quando determinou As no cabelo de um corpo exumado, após onze anos da morte. Quase 100 anos depois, em 1954, Goldblum determinou anfetamina em pêlos de uma porca guiné. Mas, a publicação que realmente mudou a situação foi a de Baugartner, que extraiu opiáceos do cabelo com metanol, utilizando aquecimento num período de 2 h, com posterior evaporação e reconstituição do material para análise por radioimunoensaio (RIA). Foi o começo de uma longa história, na qual a análise de cabelo às vezes é glorificada e em outras vezes condenada.¹

Durante as últimas décadas, a determinação de elementos traço em cabelo foi um assunto de interesse ininterrupto nas ciências biomédicas e ambientais. Tais medidas podem ser usadas para avaliar o estado nutricional, diagnose, intoxicação e para monitorar a exposição ambiental.^{2, 3} O cabelo é um órgão excretor e o seu conteúdo de elementos traço reflete, de alguma maneira, o metabolismo desses elementos no organismo,² sendo que mais de quarenta elementos podem ser detectados no cabelo.⁴ Esses elementos têm origem interna (endógenos) ou externa (exógenos). As concentrações desses elementos no cabelo têm alguma relação com a sua concentração em outros tecidos do mesmo organismo.²

Com o desenvolvimento de novas técnicas analíticas e da área de nutrição na década de 1960, a análise de cabelo teve um grande avanço, graças à facilidade de determinação. Assim sendo, muitos pesquisadores aplicaram estas análises para o acompanhamento nutricional dos indivíduos. Esse interesse resultou, nas décadas seguintes, em publicações de vários livros e na realização de simpósios especializados sobre o assunto.⁴

A determinação de elementos traço no cabelo não é tão difícil quanto em amostras de sangue e urina, e apresenta algumas vantagens, tais como a maior concentração dos elementos e efeito de matriz bem menos relevante.⁵ Geralmente, parâmetros pessoais (sexo, peso, altura, idade, cor do cabelo, causa da morte, hábito de fumar, grau de urbanização do bairro da residência de moradia, consumo de bebidas alcoólicas, demora de tempo entre morte e autópsia e uso de refrigeração do cadáver)

influenciam na concentração dos elementos traço no cabelo.^{2, 3, 6-9} Por exemplo, o nível de Cd encontrado em estudos realizado na população japonesa, mostra que a concentração é, relativamente, mais alta para as pessoas mais idosas e de cabelo grisalho, do que para a população mais jovem e de cabelos escuros.² A determinação de um elemento tóxico não essencial no cabelo, é um indicador positivo de que o indivíduo esteve em contato com este elemento.¹⁰ Bozsai³ demonstrou, em seus estudos aplicados à análise de cabelo humano, que a população de uma determinada região industrializada na Hungria estava contaminada por As, e esta contaminação era proveniente da água consumida, sendo que à medida que aumentava a contaminação na água, aumentava a concentração de As no cabelo. Foi também constatado que o problema era mais grave em crianças na faixa etária de 3 a 6 anos de idade, nos cabelos das quais foram encontrados acúmulos mais elevados de As.

A intoxicação por As resulta em necrose do fígado, hepatite, encefalite, nefrite, degradação dos nervos e rins; o Cd ocasiona perda de peso, hemorragia, rinofaringite, fibrose dos brônquios, efizema pulmonar e danos ao fígado e rins, e o Pb causa danos ao sistema nervoso central, cérebro, rins e sistema reprodutor. A análise de elementos traço no cabelo é utilizada pelo fato de que a concentração dos elementos no cabelo pode indicar a concentração dos mesmos no organismo.⁹

Para um estudo de contaminação populacional, algumas condições devem ser cumpridas para a confiabilidade dos resultados das análises de cabelo, tais como: amostragem representativa da população; uso de técnicas unificadas; prevenção de contaminações da amostra; utilização de material de referência e emprego do controle de qualidade nos procedimentos empregados entre os diferentes laboratórios.⁸

Vários laboratórios informaram que os níveis dos elementos traço, está diretamente ligado às condições ambientais ou fisiológicas específicas do indivíduo. Arnold *et al.*¹⁰, relataram que os exames de pessoas com exposições individuais, como por exemplo, pessoas com obturação dentária de amálgama, apresentaram níveis mais elevados de Hg no cabelo.

A aceitação geral da análise do cabelo foi impedida pela falta de um procedimento padrão para a amostragem e para o pré-tratamento da amostra, e de técnicas analíticas adequadas para análise, assim como, pela inexistência de

procedimentos apropriados de garantia da qualidade analítica e pelas incertezas a respeito do mecanismo, pelo qual os elementos traço são incorporados no cabelo.²

Segundo Bozsai³, a exatidão e precisão das análises, deveriam ser averiguadas, reproduzindo-se o procedimento analítico inteiro com os materiais de referência, empregando não menos de três alíquotas para cada amostra certificada e 10 determinações para cada alíquota, já que a escolha do método analítico também influencia sobre os resultados.⁸

O intervalo de referência a ser aplicado à comparação dos resultados da análise das amostras reais deve ser utilizado com cautela, uma vez que, a concentração dos elementos, muitas vezes, encontra-se na faixa de concentração de $\mu\text{g/g}$ (ppm) ou ng/g (ppb) e, desta maneira técnicas adequadas para tais medidas são requeridas. Miekeley *et al.*¹¹ relataram que muitos laboratórios informam o intervalo de referência para a concentração de elementos traço em cabelo humano utilizando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), que tem limites de detecção, muitas vezes, inadequados para medidas de concentração de elementos traço presentes nestas amostras. Os resultados obtidos por estes autores para um padrão de cabelo humano, utilizando-se a técnica de espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), foram comparados àqueles obtidos por outros laboratórios, por ICP OES. Foi observado que os valores de concentração encontrados por ICP OES eram diferentes dos obtidos por ICP-MS. Em conclusão, os autores sugerem reavaliar o intervalo de referência correto, uma vez que os intervalos existentes na literatura estão em desacordo com os propostos por eles, onde, foram amostradas 1091 pessoas com idade acima de 20 anos, empregando ICP-MS.¹¹

A análise de cabelo é bastante útil para estudos de novas drogas, quando um único elemento, como As, é medido para diagnosticar uma hipótese específica.⁷ Entre as várias aplicações da análise de cabelo, podem ser citadas: identificação de criminosos; monitoramento e avaliação de exposição a poluentes nocivos; comprovação do uso de drogas, investigação em cadáver, avaliação do consumo e controle de viciados em centros de reabilitação, avaliação de candidatos à obtenção da carteira de habilitação (Europa) e a empregos (USA).^{10, 12}

No Brasil, atualmente, a análise de cabelo é solicitada principalmente por médicos da área da medicina ortomolecular, para avaliar o estado nutricional

(elementos essenciais presentes em baixa ou alta concentração) e possíveis contaminações por metais pesados. Citam-se como exemplo os elementos Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Se, V e Zn, essenciais ao organismo, mas que se estiverem presentes em excesso podem provocar doenças ou até mesmo a morte. Doenças também podem ocorrer se estes elementos não estiverem presentes em quantidades suficientes no organismo. Elementos tais como Tl, As, Sb, Bi e Hg não são essenciais, sendo sempre indesejáveis em qualquer concentração.⁹

O objetivo do presente trabalho, é o desenvolvimento de um método de preparação da amostra por hidrólise alcalina utilizando TMAH, para posterior determinação de elementos traço (As, Cd, Ni e Pb) por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (ETAAS), empregando o conceito STPF (forno-plataforma com temperatura estabilizada). Os resultados obtidos para uma amostra certificada serão comparados com os obtidos por outro método de preparação da amostra com ácido, descrito na literatura.¹¹ Amostras reais tratadas com ácido serão analisadas também por ICP-MS. Os resultados obtidos para as amostras reais pelas duas técnicas serão comparados com os intervalos de referência propostos por Miekeley *et al.*¹¹

2 - ASPECTOS FUNDAMENTAIS

2.1 - Coleta

A amostra de cabelo deve ser coletada na região da nuca, área posterior acima do pescoço, região na qual, na maioria das vezes, se encontra cabelo, até mesmo em pessoas calvas e é menos susceptível às contaminações externas. Somente segmentos de 0 a 10 mm a partir do couro cabeludo devem ser utilizados nas análises, pois fornecem informações quanto à exposição do sétimo ao vigésimo primeiro dia antes da coleta. As diferenças de pigmentações do cabelo são devidas à variação da concentração dos elementos, logo, nos cabelos com segmentos de cores diferentes, estes devem ser amostrados separadamente. Os cabelos quando submetidos a tratamentos, tais como os coloridos artificialmente, não devem ser coletados, pois podem ter sido contaminados com alguns elementos ou também, o corante pode remover elementos incorporados na estrutura do cabelo, alterando, assim, os valores reais de concentração para alguns elementos. Deve-se coletar, aproximadamente, de 0,5 g a 1 g de cabelo, dependendo da técnica a ser empregada, utilizando instrumentos que não contaminem a amostra, tais como tesoura de polietileno, quartzo ou outro material inerte, utilizando luvas e convenientemente estocando a amostra em frascos de plásticos secos e limpos.^{3-5, 9, 12, 13}

2.2 – Lavagem

O processo de lavagem do cabelo é empregado para separar elementos traço internos (endógenos) dos externos (exógenos), com a finalidade de remover a sujeira, poeira e outras contaminações que possam estar presentes na superfície do cabelo. Chittleborough relata que a não lavagem das amostras de cabelo humano é adequada para investigações ambientais, mas não é apropriada para estudos biomédicos ou históricos-metabólicos do indivíduo.^{13, 14}

A análise de solução feita a partir de cabelo submetido ao processo de lavagem é bem mais usual,⁷ já que a lavagem do cabelo tem por finalidade a remoção de contaminantes externos sem que ocorra a remoção de elementos incorporados durante seu crescimento, sendo que os diferentes métodos de lavagem apresentam diferentes eficiências para os diferentes elementos.¹⁵

Vários métodos de lavagem são descritos na literatura⁹ e o desenvolvido pelo IAEA (International Atomic Energy Agency) é bastante utilizado em vários laboratórios. Neste método, uma quantidade de 0,5 g de cabelo é lavada sucessivamente com acetona, três vezes com água e novamente com acetona, e entre cada lavagem, o cabelo é deixado coberto com o solvente, à temperatura ambiente e sob agitação, decantando-se o líquido entre cada lavagem e deixando-se o cabelo secar durante a noite envolvido em papel filtro de grau cromatográfico. Toro *et al.*² empregou este método de lavagem para as determinações de As, Cd, Cu, Hg, Pd, Se e Zn.

O método desenvolvido por Miekeley *et al.*¹¹, emprega a combinação de solvente orgânico e detergente: uma alíquota de aproximadamente 300 mg da amostra de cabelo é lavada com 20 mL de acetona durante 10 minutos e, após, é enxaguada com água desionizada três vezes. Posteriormente, a amostra é lavada em três etapas com 20 mL de solução de EXTRAN® 1%, enxaguada várias vezes para remover o detergente e, por fim, é secada em estufa durante a noite a 60°C. Todas as lavagens são realizadas em banho ultra-sônico.

Alguns estudos comparativos entre os diferentes métodos de lavagem são reportados na literatura. Um trabalho recente foi realizado por Borella *et al.*¹⁵, comparando a eficiência da lavagem para os seis métodos mais utilizados e que estão apresentados na Tabela 1, empregando um detergente iônico, um não iônico, um agente quelante, um solvente orgânico, sonificação e o procedimento recomendado pela IAEA, já citado acima, a fim de identificar o procedimento que permita a remoção satisfatória somente da contaminação externa. Nove elementos foram selecionados para este estudo de acordo com a importância biológica e concentração, incluindo elementos traço essenciais (Ca, Cu, K, Mg e Zn), dois elementos tóxicos (Cd e Pb) e dois elementos limitantes (Cr e Se), que em baixas concentrações são essenciais e em concentrações mais elevadas tornam-se tóxicos. As conclusões encontradas pelos

autores foram que os procedimentos de lavagem apresentam eficiências diferentes de acordo com o tipo de elemento; os resultados obtidos no presente estudo, reportam que o lauril sulfato de sódio mostrou-se o mais efetivo na remoção de elementos traço essenciais (Ca, Cr, Cu, Se e Zn), a acetona mostrou-se a mais efetiva para os elementos mais tóxicos e K, mas, no entanto, provoca contaminações de Cd e Se, e o EDTA é muito agressivo, removendo elementos da estrutura do cabelo, tais como Ca, Cu, K e Pb. No entanto, os detergentes parecem remover somente contaminantes externos, logo um detergente não iônico como o Triton X-100 é proposto como uma boa alternativa no lugar da acetona, usado no método da IAEA. Suas vantagens práticas são as condições seguras de processamento, rapidez na aplicação e redução dos custos.

Tabela 1 - Comparação dos procedimentos mais usuais de lavagem do cabelo humano. Adaptada de Borella *et al.*¹⁵

1 – Detergente não iônico	2 – Detergente iônico	3 – Agente quelante
Triton X-100 a 1%	lauril sulfato de sódio a 1%	EDTA a 5%
↓ 1 vez (1x) por 30 min	↓ 1x durante 30 min	↓ 1x durante 30 min
filtração	filtração	filtração
↓	↓	↓
enxágüe (água)	enxágüe (água)	enxágüe (água)
↓	↓	↓
secagem	secagem	secagem
4 – Solvente orgânico	5 – Método IAEA	6 – Sonificação
acetona/metanol (1:1)	acetona (1x)	água em um banho
↓ 4x durante 20 min (cada vez)	água (3x)	ultra-sônico
filtração	acetona (1x)	↓ 4x durante 5 min (cada vez)
↓	↓ durante 10 min (cada vez)	filtração
enxágüe (água)	filtração	↓
↓	↓	enxágüe (água)
secagem	enxágüe (água)	↓
	↓	secagem
	secagem	

2.3 - Solubilização

O cabelo é uma matriz relativamente simples de ser decomposta, e a ausência de gordura no cabelo facilita ainda mais a sua dissolução. A digestão ácida, em copo aberto ou fechado, é a mais utilizada e vários métodos são descritos na literatura.⁹ Vários métodos são descritos na literatura para a decomposição da amostra em meio ácido. Um método bastante interessante foi desenvolvido por Miekeley *et al.*¹¹ que emprega ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, com baixo consumo de amostra, e é um método que utiliza materiais relativamente simples e comuns em todos laboratórios de química analítica, sendo que os detalhes estão apresentados no item 3.1.3.4.

A hidrólise alcalina é raramente empregada para a determinação de compostos inorgânicos no cabelo sendo, mais freqüentemente, empregada para a determinação de compostos orgânicos.⁵ Há um interesse crescente em se utilizar o TMAH, o qual é fortemente alcalino, solúvel em água, complexa fortemente com todos os metais, estabiliza elementos voláteis, tais como Se, I, Hg, B e As e, desta maneira, minimiza a perda, além de solubilizar bem tecidos animais. O TMAH é utilizado nas indústrias de semicondutores, sendo que o seu grau de pureza deve ser o mais alto possível. Desde que TMAH esteja disponível em alta pureza, os brancos se tornam insignificantes.¹⁶⁻¹⁸

Entre os vários trabalhos que foram encontrados na literatura, empregando a hidrólise alcalina para a solubilização de amostra de cabelo, citam-se os que seguem abaixo, com alguns comentários:

- Em 1976, Alder *et al.*¹⁹ empregaram o TMAH para solubilização da amostra, onde 0,7 a 1 g de cabelo foram adicionados de 3 mL de TMAH a 25% m/v, avolumando a 10 mL com água e determinação de Si, Co, Ni, Cr e Fe por ETAAS.
- Steven²⁰ também empregou o TMAH, sendo que a amostra de cabelo foi colocada em tubo de polipropileno e adicionada de 2,0 mL de solução aquosa de TMAH a 50 g/L, para cada 20 mg de cabelo; o frasco foi fechado e colocado em estufa a 90°C por uma a duas horas, sendo eventualmente agitado e, por fim, a amostra foi diluída em etanol a um volume final de 10 mL. Este método foi empregado para a

determinação de Al e Cu por ETAAS e Zn por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS).

- Tsalev *et al.*²¹ propuseram o seguinte procedimento:

Uma amostra de aproximadamente 100 mg de cabelo foi colocada em tubo de quartzo e foram adicionados 5 mL de solução aquosa de TMAH 10% v/v, aquecendo por 30 min a uma temperatura de 70°C, com eventual agitação. Este método foi empregado para a determinação de Sn por ETAAS, empregando uma mistura de V e Pd, como modificador químico.

Em outro trabalho, Tsalev *et al.*²² colocaram uma amostra de aproximadamente 100 mg em tubo de quartzo e adicionaram 500 µL de solução aquosa de hidróxido de tetraetilamônio (TEAH) 20% m/v, aquecendo por 30 min a uma temperatura de 70 °C com eventual agitação, e finalmente diluindo a 2 mL com água. Este método foi empregado para a determinação de Se por ETAAS, empregando Pd e W como modificadores químicos.

Outros métodos para a preparação da amostra, além da solubilização com a hidrólise alcalina e a digestão ácida, são descritos na literatura. Bermejo-Barreira *et al.*²³⁻²⁵ apresentam três trabalhos, usando uma suspensão (“slurry”) da amostra, após moer a mesma até alcançar o diâmetro desejado das partículas e adicionar agentes dispersantes. Este método foi utilizado para a determinação de Cd, Pb e Mn por ETAAS.

2.4 - Técnicas analíticas empregadas para análise de cabelo

Várias técnicas de medida são usadas para a determinação de elementos traço em amostras de cabelo humano, quais sejam ETAAS, ICP-MS, fluorescência de raios-X (XRFA), ativação neutrônica (NAA), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), FAAS, ICP OES e voltametria de redissolução anódica (ASV).²⁶

2.4.1 - Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica

A espectrometria de absorção atômica (AAS), até atingir as características atuais, passou por várias evoluções. Sua história começa em 1802 com os estudos das raiais escuras no espectro contínuo do sol por Wollaston. Fraunhofer em 1814, estudou essas linhas mais detalhadamente. Brewster, em 1820, realizou estudos de absorção na atmosfera do sol, e a técnica foi implementada 45 anos depois por Kirchoff e Bunsen com a descoberta de que “a matéria absorve luz do mesmo comprimento de onda com que a luz é emitida”. O primeiro trabalho analítico foi apresentado em 1939 por Woodson, que estudou a determinação de mercúrio no ar. Em 1955, Walsh mostrou que íons metálicos podem ser reduzidos em uma chama, e que a concentração desses íons pode ser determinada pela absorção da luz monocromática incidente. Dez anos depois surgiu o primeiro aparelho comercial e, desde então, a técnica têm sido difundida e aperfeiçoada.²⁷

A técnica de ETAAS surgiu em 1959 proposta por L'vov, que introduziu o forno de grafite para gerar átomos livres em espectrometria de absorção atômica. Em 1968 surgiu o forno de Massmann, onde o tubo, conectado aos cones de grafite, era aquecido eletricamente com uma corrente de baixa voltagem. Este aquecimento por resistência elétrica permitiu uma mudança gradual da temperatura em estágios e, portanto, possibilitando a seleção das condições ótimas de temperatura para a atomização de cada elemento individualmente. Os atomizadores eletrotérmicos atuais, disponíveis comercialmente, são diferentes variações do forno de grafite original de Massmann. Eles diferem nas dimensões do tubo, na programação, na flexibilidade e na conveniência de operação, sendo que o princípio é o mesmo.^{28, 29}

A técnica de AAS consiste na medida da absorção da radiação por átomos livres no estado gasoso. Na Figura 1 está apresentado um diagrama esquemático de uma configuração de um aparelho de ETAAS com correção simultânea do fundo com lâmpada de arco de deutério. O corretor de fundo que usa lâmpada com espectro contínuo (deutério) apresenta algumas vantagens, tais como o preço, correção automática e resolve a maiorias dos problemas, sendo que corrige até 0,5 unidades de absorvância.

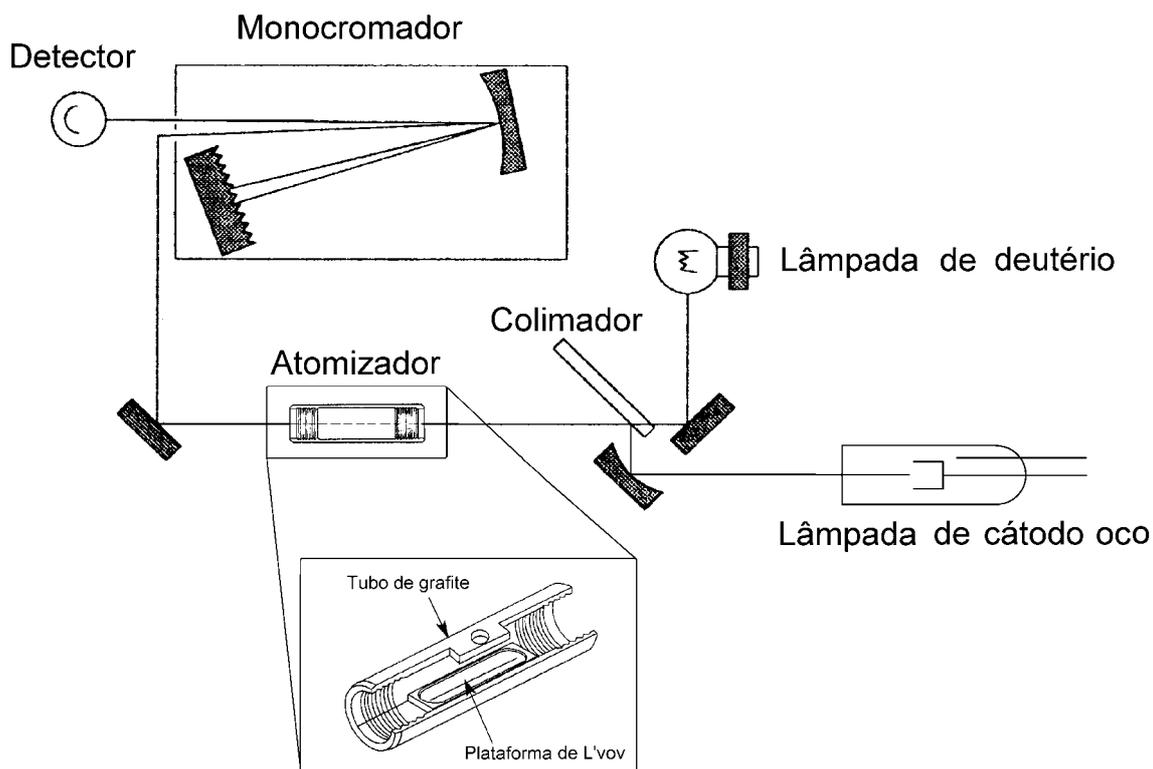


Figura 1 - Desenho esquemático de uma configuração de um aparelho de ETAAS com correção simultânea de fundo com lâmpada de arco de deutério. Adaptado de Lajunen e Hardware Guide.^{28,30}

Para esta configuração, a amostra é colocada sob a forma de uma solução ou suspensão, sobre uma plataforma de grafite (plataforma de L'vov), inserida dentro do tubo de grafite, o qual é submetido um programa temperatura-tempo, para se obter a separação da matriz antes da atomização do analito. A lâmpada de cátodo oco emite uma radiação característica do elemento a ser determinado, sendo que sua radiação emitida, assim como da lâmpada de arco de deutério, são moduladas e, desta maneira, a radiação proveniente do atomizador não é considerada. O colimador tem a função de separar as radiações das duas lâmpadas e, dessa maneira, uma radiação de cada vez é lida, possibilitando descontar o valor do sinal de fundo simultaneamente e fornecer o valor correto da absorção atômica. O monocromador tem a função de selecionar a linha espectral desejada, sendo o sinal modulado ampliado por um amplificador seletivo e, finalmente, registrado no detector.²⁸

A técnica de ETAAS apesar de ser geralmente monoelementar, é muito adequada para a determinação de baixas concentrações de metais e semimetais, pois apresenta alta sensibilidade já que a amostra inteira colocada no forno é atomizada em um curto período de tempo, e o tempo de residência média dos átomos no caminho óptico é de 1 s ou mais. Além disso, a técnica apresenta seletividade, requer pequenos volumes de amostra (10 - 100 μL) e possui limites de detecção, para a maioria dos elementos, no intervalo de concentração entre ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$.³¹

A temperatura do forno de grafite pode ser elevada até 3300 K (temperatura máxima suportada pelo grafite). Para cada análise um programa de temperatura deve ser preparado para o controlador do forno. Geralmente o programa inclui cinco passos básicos:

- secagem da amostra;
- decomposição térmica da matriz (pirólise), onde a temperatura do forno é elevada até um nível em que o analito permanece não volatilizado;
- produção de átomos livres (atomização) por elevação rápida da temperatura até a temperatura de atomização do analito;
- limpeza do forno, elevando a temperatura do atomizador (tubo de grafite), geralmente acima da temperatura de atomização, para a remoção dos resíduos da matriz;
- decréscimo da temperatura até à ambiente, usando água como refrigerante e fluxo de gás inerte.

Na etapa de secagem o solvente é evaporado da amostra, de maneira controlada para que a evaporação do solvente seja lenta e regular. Se o solvente é removido por ebulição rápida, a amostra pode espumar, respingar e algumas partículas podem ser carregadas para fora do tubo pelo fluxo de gás.²⁸

A etapa de pirólise tem por finalidade a remoção da matriz antes da atomização. Isto diminui a possibilidade de interferência química e reduz a magnitude do sinal de fundo.

Na atomização, a amostra é aquecida para formar átomos no estado fundamental e sob a forma de vapor no caminho do feixe de radiação. A temperatura de atomização deve ser alta o suficiente para garantir a completa volatilização e atomização do analito dentro de poucos segundos. Uma velocidade de aquecimento

rápida e baixa temperatura de atomização são desejáveis.³² A temperatura na qual um elemento é volatilizado depende das propriedades do composto no qual está presente.²⁸

Em cada etapa, uma “rampa” de aquecimento pode ser usada. Rampa é a elevação gradual e controlada de temperatura, entre duas etapas, em um programa de tempo e temperatura do forno.

Uma atmosfera inerte durante a atomização da amostra é pré-requisito para qualquer análise em forno de grafite. Gás inerte (geralmente Ar) passa ao redor do tubo e no interior do tubo por dois fluxos de gás, controlados independentemente. O fluxo externo protege o tubo da exposição ao ambiente, a qual causa degradação a altas temperaturas e o fluxo de gás interno exclui o ar, mas também serve para carregar vapores gerados da matriz da amostra durante os dois primeiros passos de aquecimento.³¹

No passo de limpeza uma alta temperatura, após a atomização, prepara o forno para a amostra subsequente.

Uma melhor linearidade da curva analítica pode ser obtida quando medidas de absorvância integrada são usadas para avaliação do sinal. Quando a absorvância em altura de pico é usada para a medida do sinal, somente o ponto relacionado ao valor mais alto de absorvância está envolvido, enquanto que a absorvância integrada quantifica a área completa sob a curva. Medidas de absorvância integrada permitem temperaturas de atomização mais baixas sem perda na sensibilidade. O uso deste tipo de absorvância diminui as interferências de matriz. Quando o analito é sujeito a interferências de matriz não reproduzíveis, a qual afeta a velocidade de vaporização, a absorvância integrada será menos afetada do que a absorvância em altura de pico. Além disso, o intervalo linear da curva de calibração será maior, usando-se absorvância integrada.³²

2.4.1.1 - Conceito forno-plataforma com temperatura estabilizada (STPF)

O uso da técnica de AAS com forno de grafite ganhou um grande impulso desde a introdução do conceito STPF proposto por Slavin and Manning em 1981, sendo um conceito que faz uso formal do equipamento para reduzir interferências a um mínimo, o qual inclui as seguintes condições que são empregadas simultaneamente:

- a máxima potência de aquecimento;
- atomização a partir de plataforma de L'vov em um tubo de grafite recoberto piroliticamente;
- diferença máxima de 1000°C ou menor entre as temperaturas de pirólise e de atomização;
- uso de modificador químico;
- uso de corretor de fundo;
- parada do gás durante a atomização;
- medida do sinal em área de pico.³³

Atualmente o conceito STPF é praticamente empregado por todos os usuários da técnica ETAAS.

2.4.1.2 - Modificador químico

A modificação da matriz foi proposta, na espectrometria de absorção atômica no forno de grafite, por Ediger em 1975. Ele propôs que a adição de Ni diminuiria a volatilidade do As e Se, e que a adição de fosfato de amônio estabilizaria o Cd. Ediger também propôs a adição de nitrato de amônio em amostras de água do mar, para remover o cloreto de sódio a baixas temperaturas de pirólise, nas quais o analito não se volatiliza.

De fato, este procedimento, modificação de matriz, reduz ou elimina interferências de fase condensada e fase vapor e é uma importante condição do conceito forno-plataforma com temperatura estabilizada. A modificação efetiva do

analito ou da matriz reduz interferências espectrais, devido à absorção da radiação pela sobreposição molecular ou por linhas atômicas dos concomitantes e o espalhamento de radiação pelas partículas não-voláteis formadas pelo concomitantes.

Nesta técnica, um reagente (ou modificador), geralmente um sal inorgânico, é adicionado em excesso à amostra e às soluções analíticas.

O reagente torna:

- o interferente concomitante mais volátil, ou;
- o analito menos volátil.

Em ambos os casos, a modificação da matriz torna as volatilidades do analito e dos concomitantes suficientemente diferentes para permitir uma separação mais fácil da matriz durante a etapa de pirólise. No primeiro caso, o concomitante pode ser removido antes da atomização do analito. No segundo caso, o analito forma sais termicamente mais estáveis, óxidos ou compostos metálicos com o modificador de matriz. Isto permite a utilização de temperaturas de pirólise e atomização mais altas.

Outros modificadores foram propostos anos após Ediger ter introduzido o conceito e o termo “modificação de matriz”, como o Mo, La, ácido fosfórico, nitrato de magnésio, dicromato de potássio, e muitos outros.

Para uma espécie ser utilizada como modificador químico em ETAAS, várias exigências são necessárias para se estabelecer uma rotina de trabalho. São elas:

- o elemento analito deveria ser estabilizado à temperatura de pirólise tão alta quanto possível, pelo menos a 1000°C, para permitir a volatilização dos concomitantes;
- o modificador deveria ser aplicável a muitos elementos;
- o modificador deveria ter alto grau de pureza, e não conter o elemento analito em concentrações mensuráveis;
- o modificador não deveria conter um elemento, presente em alta concentração que terá que ser determinado posteriormente a níveis de traços;
- o modificador não deveria reduzir o tempo de vida do tubo de grafite;
- o modificador não deveria produzir uma excessiva atenuação de fundo em torno do comprimento de onda do elemento analito.

Infelizmente, muitos dos modificadores propostos não estão de acordo com uma ou mais exigências citadas acima. Por exemplo, o Ni, que é recomendado para As, Au, Bi, Sb, e Te tem que ser freqüentemente determinado a níveis muito baixos, assim a contaminação do forno por este modificador não é desejada. Outro exemplo é o La que apresenta um efeito muito corrosivo no tubo de grafite e plataforma.³⁴

Schlemmer e Welz³⁴ propuseram em 1986 uma mistura de nitrato de paládio e nitrato de magnésio como um modificador adequado para mais de 20 elementos, resultando temperaturas de pirólise entre 900°C e 1400°C e temperatura ótima de atomização em torno de 2000°C, para os elementos investigados.

2.4.2 – Espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado

Em 1975, Gray mostrou que razões isotópicas podiam ser determinadas, com bons limites de detecção, com a introdução da solução num plasma de corrente contínua (DCP), sob pressão atmosférica, o qual produz íons que são extraídos para dentro de um analisador de massa. A partir destes estudos, a espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), foi desenvolvida na década de 1970 por Houk e colaboradores, e a primeira publicação ocorreu em 1980. A partir de 1983, com o lançamento do primeiro instrumento comercial, esta técnica se difundiu rapidamente.³⁵

O plasma indutivamente acoplado (ICP) é uma descarga sem eletrodo num gás à pressão atmosférica, mantido pela energia acoplada a ele proveniente de um gerador de radiofrequência (RF). Isto é feito por uma bobina acoplada adequadamente que funciona como o indutor primário de um transformador de radiofrequência e o secundário é criado pela própria descarga. O gás usado comumente é o argônio, embora outros gases sejam ocasionalmente usados, algumas vezes como complementos para o suprimento principal. O plasma é gerado no interior e na abertura final de um conjunto de tubos de quartzo conhecido como tocha. Um arranjo típico de uma tocha comumente usada é mostrado na Figura 2, baseada no desenho de

Scott Fassel, tendo um tubo externo com diâmetro interno de 18 mm e cerca de 100 mm de comprimento. No seu interior existem dois tubos concêntricos de 13 a 1,5 mm de diâmetro interno que finalizam a pequena “boca” da tocha. Cada região anelar formada pelos tubos, é mantida com gás por um tubo lateral que entra tangencialmente para que crie um fluxo vorticular. O tubo central, através do qual a amostra é introduzida no plasma, é trazido ao longo do eixo. O fluxo de gás externo, chamado de fluxo refrigerante, protege as paredes do tubo e atua como o principal gás de suporte do plasma e é usualmente de 10 a 15 L min⁻¹. O segundo fluxo de gás que é introduzido no espaço anelar interno, chamado de fluxo auxiliar, é usado principalmente para assegurar que o plasma quente seja mantido afastado da extremidade do tubo capilar injetor central, para prevenir que ele seja fundido. O fluxo central de gás, freqüentemente chamado de fluxo injetor, nebulizador ou carreador, transporta o aerossol proveniente do sistema de introdução da amostra até o plasma e é cerca de 1 L min⁻¹.³⁶

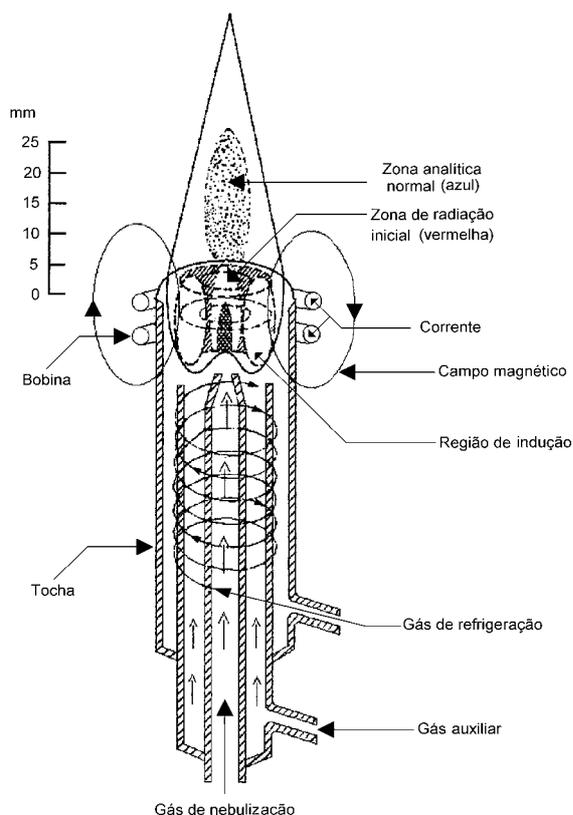


Figura 2 – Esquema de uma tocha ICP. A figura mostra os três tubos concêntricos, situados em uma bobina de indução de um gerador de radiofrequência. Adaptado de Houk *et al.*³⁶

O plasma é utilizado como uma fonte de íons para a espectrometria de massa. A amostra é introduzida no plasma por meio de diversos sistemas (ETV, HPLC, LA, etc.), sendo mais convencional a introdução da amostra por nebulização pneumática, na qual a amostra é nebulizada e introduzida no plasma por meio de um fluxo de argônio. O fluxo de gás que conduz a amostra fura o plasma, e a amostra é atomizada e ionizada na região mais quente do plasma, a qual corresponde à cerca de 10 mm acima da bobina de indução. Nesta região, com temperatura em torno de 8000 K, mais de 50 elementos sofrem a primeira ionização em uma extensão maior do que 90% e para elementos com a segunda energia de ionização em torno de 15 eV, menos de 10% de íons de dupla carga são produzidos.³⁵

O plasma é formado sob pressão atmosférica e os íons produzidos são introduzidos no analisador de massa, que atua num sistema a vácuo. Portanto, os íons produzidos no plasma são extraídos por um sistema de vácuo para dentro do analisador de massa. Isto é feito quando um cone resfriado com água, e com um orifício de amostragem no topo, é colocado diretamente no plasma. A diferença de pressão entre os dois lados do cone propicia a passagem do gás carregador de íons pelo orifício. Entre os dois cones e atrás do “skimmer” existe um sistema de alto vácuo, para impelir um jato supersônico para dentro do analisador de massa. Um sistema de lentes eletrostáticas (ou uma única lente) com voltagem negativa (eletrodos extratores), extraem os íons positivos e os dirige para o analisador de massas, os íons negativos são repelidos, e as partículas neutras se difundem no vácuo.³⁵

O analisador de massa quadrupolar (Figura 3), consiste de quatro hastes metálicas, que tem 12 a 18 mm de diâmetro e cerca de 200 mm de comprimentos, duas carregadas com potencial elétrico positivo e duas carregadas com potencial elétrico negativo, com forma hiperbólica, posicionados nos quatro lados de um quadrado. Os íons a serem separados são introduzidos ao longo do eixo em uma extremidade da estrutura quadripolar em velocidades determinadas por suas energias e massas. As voltagens de RF aplicadas desviam todos os íons para caminhos oscilatórios através dos cilindros. Se as voltagens de corrente contínua (DC) e de corrente alternada (AC) são selecionadas apropriadamente, somente os íons de uma dada razão m/z terão caminhos estáveis através dos cilindros e aparecerão na outra extremidade. Outros íons serão desviados, baterão nos cilindros, serão neutralizados e por lá perdidos. No plano

positivo, o quadrupolo atua como um filtro de massa de alta passagem, pois o íon mais pesado, pelo efeito de inércia, tende a continuar sua trajetória, enquanto que o íon mais leve, levado pela alta frequência, acaba por chocar-se com um dos cilindros, sendo desta maneira, neutralizado. No plano negativo, o quadrupolo atua como um filtro de massa de baixa passagem, visto que o íon mais pesado, devido à baixa frequência, é levemente desviado da sua trajetória e, na tendência de seguir seu movimento iniciado (inércia), pode se chocar com os cilindros e os íons mais leves têm caminhos mais estáveis. Portanto, as dimensões das trajetórias iônicas relativas aos limites dos cilindros são críticas.³⁶

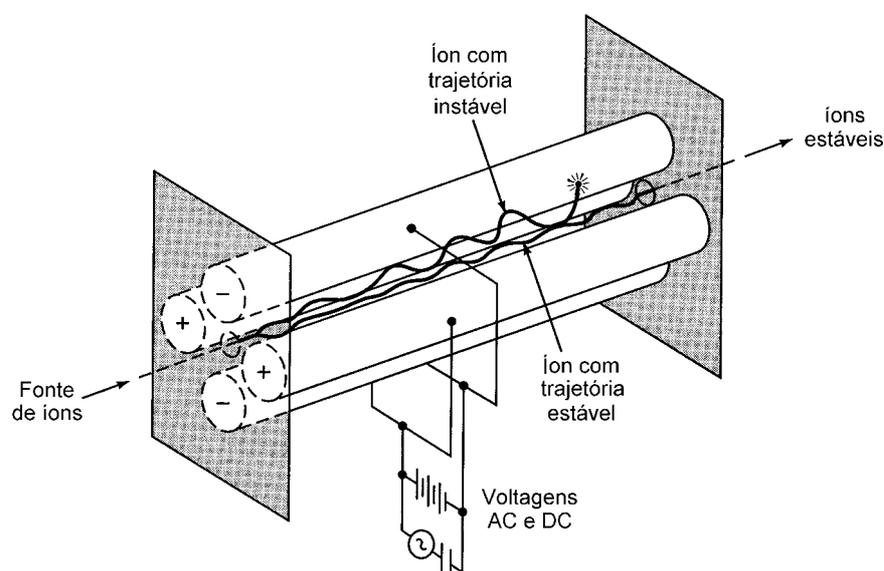


Figura 3 – Diagrama esquemático dos cilindros quadrupolares mostrando trajetória iônica e voltagens aplicadas. Adaptada de Skoog *et al.*³⁷

Um dos detectores mais usados é um multiplicador de elétrons de dinodos discretos de estágio duplo que permite estender a faixa de trabalho dinâmico pois, numa única varredura de massa, mede concentrações altas e baixas. Assim, dois sinais podem ser obtidos simultaneamente. O multiplicador possui dois estágios: o analógico para contagens altas, ou seja, para altas concentrações do analito e o de pulso para contagens baixas que correspondem às baixas concentrações do analito. No estágio analógico a corrente observada é um produto da intensidade do feixe de íons incidente

e o ganho do multiplicador, e no estágio de pulso os íons incidentes são contados, individualmente, por pulso de voltagem na saída do multiplicador.³⁵ Para o estágio analógico a corrente de elétrons atravessa metade da capacidade de dinodos do detector, conduzindo a uma amplificação menor enquanto que, no estágio de pulso, a corrente percorre todos os dinodos atingindo uma amplificação maior.

O detector multicanal permite que se opere somente no estágio analógico, pulso ou no estágio “dual”, no qual o próprio equipamento seleciona o estágio que deve ser usado para análise.

A operação do detector de estágio duplo ocorre por meio de uma voltagem alta (- HV) aplicada ao primeiro dinodo para atrair os íons positivos que, ao se chocarem contra os dinodos, elétrons vão sendo liberados e no ponto central do detector a corrente analógica é medida, enquanto que na base do mesmo é aplicada uma voltagem alta (+ HV) para gerar uma diferença de potencial positiva.

O valor de -HV afeta os dois estágios, e o valor +HV afeta somente o estágio de pulso. Assim, para otimizar o detector é necessário fazer a otimização das voltagens do estágio de pulso (+HV) e do estágio analógico (-HV).

O ganho do detector é definido pela Equação:

$$G = \frac{n_e}{n_i} = \frac{I_{saida}}{I_{entrada}} \quad \text{eq. 1}$$

onde: n_e = número de elétrons

n_i = número de íons

I = intensidade da corrente

O ganho do detector influencia o intervalo dinâmico de trabalho. Por exemplo, para um ganho de 10^5 a faixa de trabalho vai de $1,25 \cdot 10^3$ a $1,25 \cdot 10^8$ contagens por segundo (cps) e para um ganho de 10^4 a faixa de trabalho vai de $1,25 \cdot 10^4$ a $1,25 \cdot 10^9$ cps. A otimização do potencial -HV é, de fato, uma otimização do ganho.

A Figura 4, apresenta um diagrama esquemático de um ICP-MS. Os benefícios desta técnica incluem a rápida análise quantitativa multielementar, amplas

faixa linear dinâmica podendo ser aplicada para mais de 75 elementos, que incluem o Cl, Br e I. Os baixos limites de detecção, permitem realizar, além de estudos de razões isotópica e suas várias aplicações, estudos e aplicações nas áreas ambiental, biológica, clínica, geoquímica, metalúrgica, petroquímica e na indústria de semicondutores.³⁸

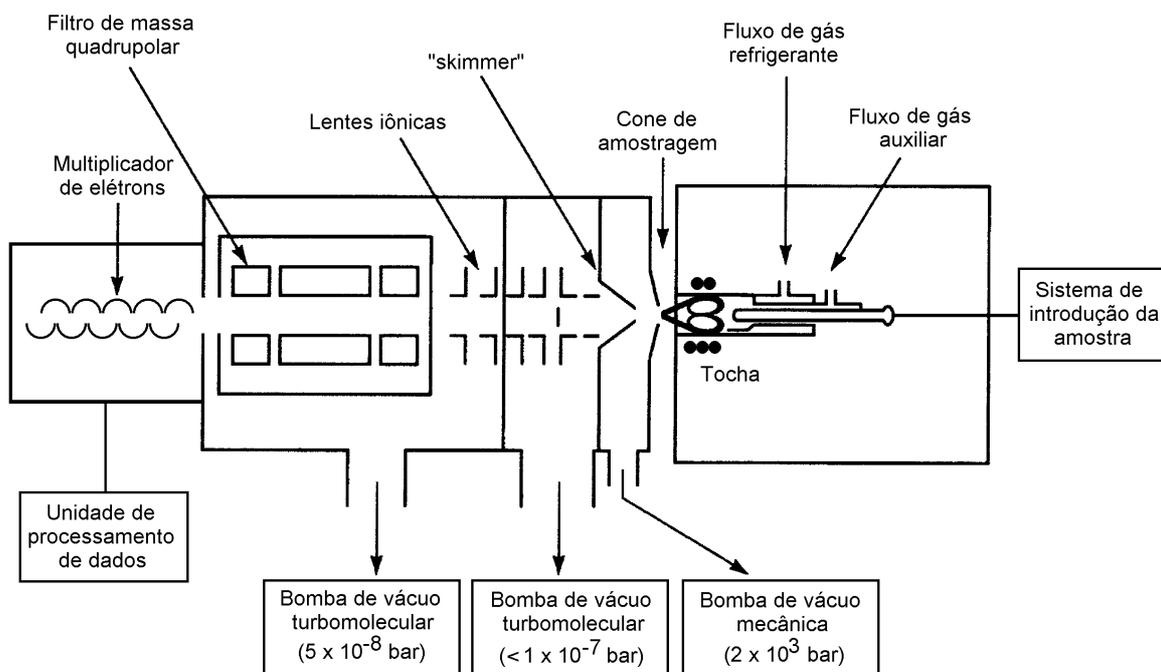


Figura 4 – Diagrama esquemático de um ICP-MS. Adaptado de Skoog *et al.*³⁷

2.4.2.1 – Interferências em ICP-MS

A técnica de ICP-MS quando lançada prometia ser, finalmente, livre de interferências, mas logo nas primeiras publicações ficou evidenciado que também está sujeita a problemas de interferências espectroscópicas (íons poliatômicos, óxidos e de carga dupla que possuem a massa nominal do analito, além de isótopos de diferentes elementos que possuem a mesma massa atômica) e não espectroscópicas (geralmente devido à matriz da amostra, a qual pode causar supressão do sinal do analito, ou elevação do seu sinal, ou problemas de entupimento do sistema de amostragem).

Os problemas devido à matriz dependem da natureza da amostra, e quando esta é preparada, este efeito pode ser minimizado com uma preparação adequada.

Porém, às vezes, é necessário o uso de métodos alternativos de introdução da amostra no plasma, ou a separação da matriz.

Sobreposição isobárica

Interferência espectroscópica que ocorre quando dois elementos possuem isótopos de mesma massa, ou muito próximas (ex. $^{113}\text{In}^+$ e $^{115}\text{In}^+$ com, respectivamente, $^{113}\text{Cd}^+$ e $^{115}\text{Sn}^+$), em cerca de 0,005 m/z. Instrumentos comerciais com analisador de massa quadrupolar têm uma resolução insuficiente para separar tal diferença de massa, o que poderia ser possível em instrumentos de alta resolução. No entanto, podem-se empregar correções matemáticas, que em geral já constam nos programas de computador dos instrumentos. Isto, entretanto, é possível quando a concentração do analito é maior do que a do interferente.

Íons poliatômicos

São uma das mais sérias interferências que ocorrem em ICP-MS a partir da combinação de espécies atômicas (ex. ArO^+), principalmente a partir do próprio Ar presente no plasma, H e O do solvente e de elementos abundantes nos ácidos usados (N, S ou Cl presente nos ácidos nítrico, sulfúrico e clorídrico, respectivamente).

Um grande número de íons poliatômicos podem ser formados, principalmente na região de m/z abaixo de 82. Exemplos sérios da interferência de poliatômicos incluem o $^{14}\text{N}_2^+$ com $^{28}\text{Si}^+$, $^{14}\text{N}^{16}\text{O}^{1}\text{H}^+$ com $^{31}\text{P}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$ com $^{32}\text{S}^+$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ com $^{56}\text{Fe}^+$ e $^{40}\text{Ar}_2^+$ com $^{80}\text{Se}^+$. Geralmente, a remoção dos interferentes é mais efetiva do que os procedimentos de correção, mas algumas dessas interferências podem ser corrigidas com o branco, ou um outro isótopo do analito livre de interferência pode ser medido na análise.

Óxidos refratários

Os óxidos podem ser provenientes, ou da dissociação incompleta da amostra no plasma ou por recombinações dos íons no plasma. A presença de água no plasma diminui a sua temperatura e aumenta a produção de óxidos. Tendo em vista que, uma menor energia estará disponível no plasma para dissociar as espécies MO^+ , mais íons óxidos vão chegar ao detector, principalmente aqueles com maior energia de

dissociação.³⁶ Alguns exemplos da interferência por óxidos e hidróxidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Espécies óxidos e hidróxidos de cálcio e outros potenciais interferentes de Ni, Cu, Fe e Zn. *Os valores entre parênteses indicam a abundância natural dos isótopos. Adaptada de Skoog *et al.*³⁷

m/z	Analito*	Interferente
56	Fe(91,66)	⁴⁰ ArO, ⁴⁰ CaO
57	Fe(2,19)	⁴⁰ ArOH, ⁴⁰ CaOH
58	Ni(67,77), Fe(0,33)	⁴² CaO, NaCl
59	Co(100)	⁴³ CaO, ⁴² CaOH
60	Ni(26,16)	⁴³ CaOH, ⁴⁴ CaO
61	Ni(1,25)	⁴⁴ CaOH
62	Ni(3,66)	⁴⁶ CaO, Na ₂ O, NaK
63	Cu(69,1)	⁴⁶ CaOH, ⁴⁰ ArNa
64	Ni(1,16), Zn(48,89)	³² SO ₂ , ³² S ₂ , ⁴⁸ CaO
65	Cu(30,9)	³³ S ³² S, ³³ SO ₂ , ⁴⁸ CaOH

Íons de dupla carga

Em ICP-MS, a maioria dos íons formados são de carga unitária, no entanto, elementos que possuem a segunda energia de ionização baixa, podem dar origem a íons de dupla carga. Isto ocorre, normalmente, para elementos com energia de ionização menor daquela do Ar, que é 16 eV. Em condições normais de trabalho e com a otimização do equipamento, menos de 1% dos íons formados no plasma são de carga dupla, para um determinado elemento. Elementos tais como Ba e La são passíveis de dupla ionização, podendo a produção de íons de carga dupla ser maior para estes. No entanto, apesar de poucos íons de carga dupla serem formados, a sensibilidade pode ser afetada, já que o sinal de determinado isótopo é dependente da relação m/z. Além disso, a formação de íons de carga dupla pode causar interferência espectral. Um exemplo é o isótopo ¹³⁸Ba²⁺ que aumenta o sinal do isótopo ⁶⁹Ga⁺. É evidente que, em

uma matriz com alta concentração de Ba, na determinação de traços de Ga, essa interferência será mais evidenciada.³⁶

2.4.2.2 – Introdução de amostra no plasma

A introdução da amostra no plasma, inclusive sob a forma de aerossol úmido produzido por nebulização pneumática ou ultra-sônica, é um dos pontos mais críticos do processo analítico em ICP-MS, principalmente porque a maioria das amostras são introduzidas sob a forma líquida. Durante o desenvolvimento dos nebulizadores, foi adicionada uma câmara de nebulização colocada depois do nebulizador, para remover as gotas maiores formadas, a fim de melhorar a estabilidade do sinal e também não extinguir o plasma.

Os nebulizadores mais comumente usados na espectrometria atômica analítica são o pneumático e o ultra-sônico, sendo que os pneumáticos são os mais usados para a introdução de amostras líquidas no plasma em ICP-MS. No entanto, problemas práticos estão associados com o seu uso, como instabilidade, entupimento e baixa eficiência.

Os nebulizadores pneumáticos mais utilizados em ICP-MS são o nebulizador concêntrico, o de fluxo cruzado, o de disco poroso e o de Babington, que estão apresentados na Figura 5. Os de fluxo cruzado são menos propensos a entupimento de sais. O nebulizador concêntrico pode ser usado sozinho para a produção do aerossol e introdução do mesmo no plasma, mas quando empregado juntamente com uma bomba peristáltica, é mais vantajoso,³⁶ já que:

- elimina o efeito cabeça;
- é menos susceptível a variação de viscosidade das soluções;
- limita a quantidade de ar introduzida no plasma e minimiza a instabilidade do plasma causada pela introdução da amostra;
- a vazão da solução pode ser variada separadamente da vazão do gás;
- a velocidade da bomba pode ser aumentada entre a introdução das diferentes amostras para reduzir o tempo de lavagem.

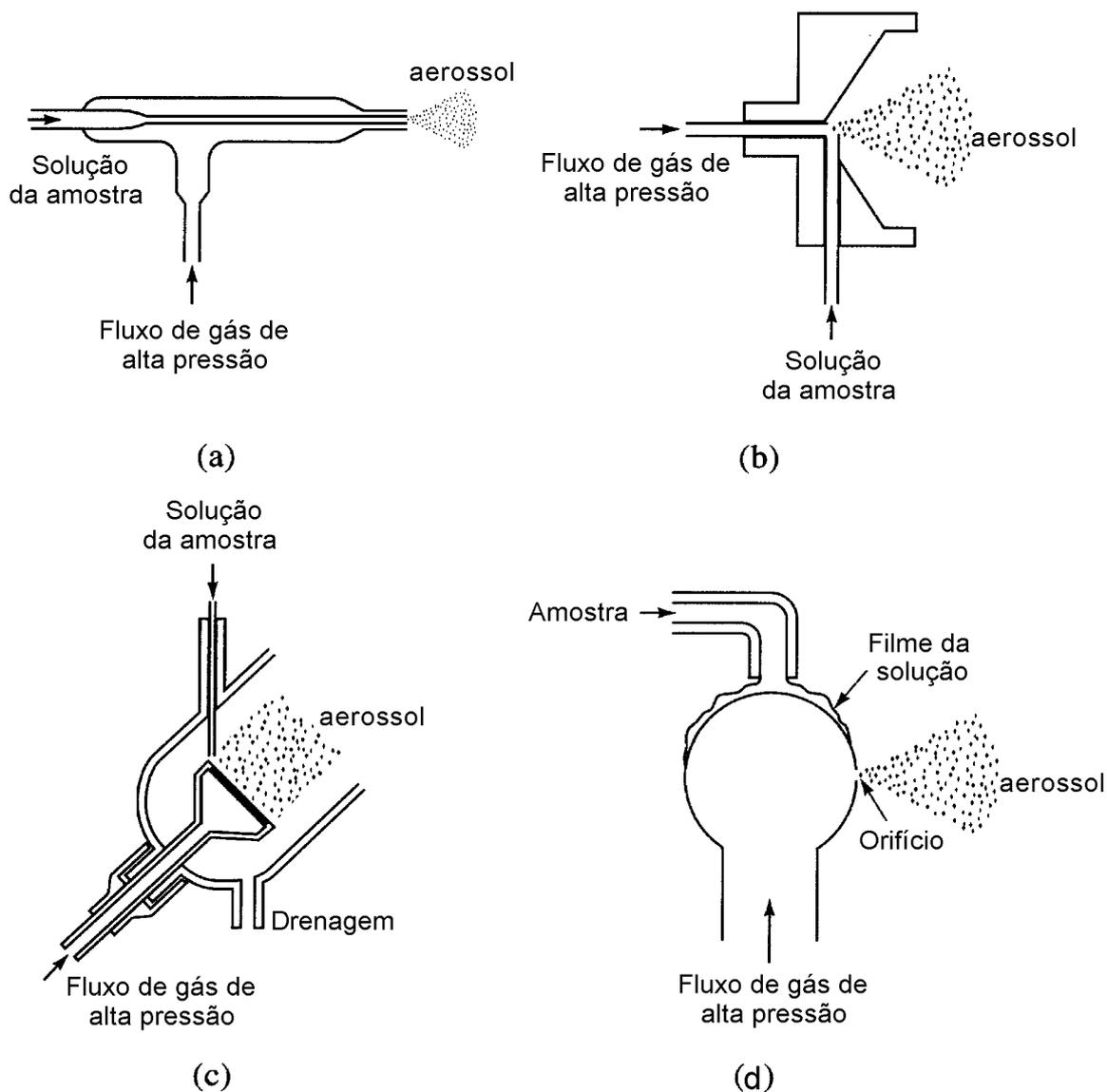


Figura 5 - Tipos de nebulizadores pneumáticos: (a) concêntrico, (b) fluxo cruzado, (c) disco poroso e (d) Babington. Adaptada de Skoog *et al.*³⁷

A nebulização ultra-sônica de fluxo contínuo com dessolvatação do aerossol, fornece várias vantagens como meio de introdução da amostra no ICP, porém a literatura nos dá uma impressão muito variada sobre os méritos relativos desta forma de geração do aerossol, frente a nebulização pneumática. Por exemplo, existem relatos reiterados que exaltam as virtudes da nebulização ultra-sônica com dessolvatação, e descrições de aplicações a algumas tarefas analíticas mais difíceis encontradas pelo analista. Em contraste, comentários são feitos sobre um número de

impropriedades presumidas ou reais da nebulização ultra-sônica com dessolvatação, como instabilidade a curto e em longo prazo, falta de confiabilidade, maiores efeitos entre elementos, contaminação cruzada e efeito de memória, tempo de limpeza excessivo e flutuação na eficiência de geração do aerossol. Muitos analistas foram desencorajados ao seu uso devido a esses comentários, os quais não reconheceram que estas dificuldades podem ter sido causadas pelo desenho, deficiência de operação ou ainda por mudanças na composição da matriz da amostra.

Um diagrama esquemático de um sistema nebulizador ultra-sônico de fluxo contínuo é mostrado na Figura 6. O coração do sistema é um transdutor piezoelétrico, o qual é um cristal semelhante a um “wafer”, freqüentemente composto de titanato de chumbo-zirconato de chumbo, com filmes de metais condutores nos lados opostos do “wafer”. Esse “wafer” é ligado à superfície interna do prato transdutor, como mostrado na figura, sendo que a aplicação de altas voltagens de freqüência nos filmes de metal do transdutor, fazem com que o cristal experimente forças de torção, flexão e cisalhamento, conduzindo a vibrações mecânicas do cristal de acordo com a freqüência das altas voltagens aplicadas.³⁹

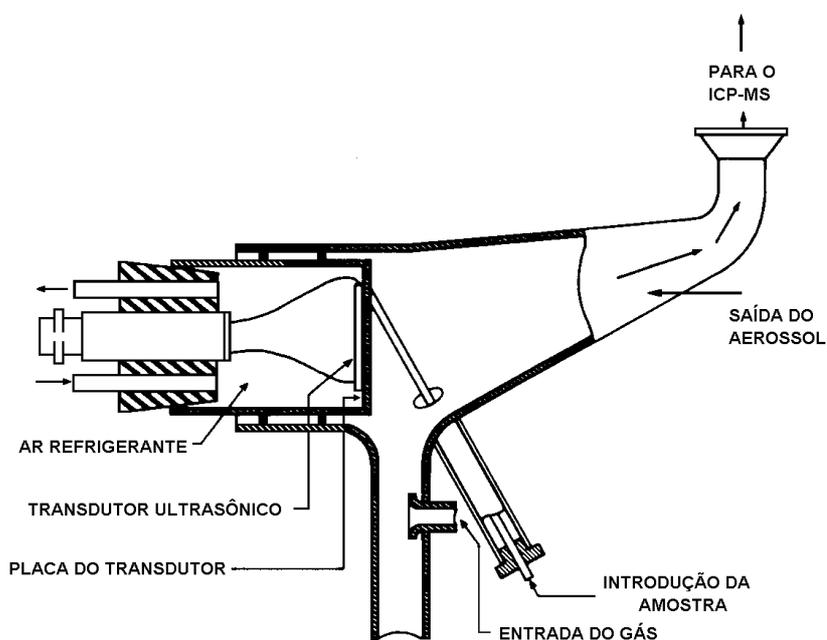


Figura 6 – Desenho esquemático do nebulizador ultra-sônico com fluxo contínuo. Adaptada de Fassel *et al.*³⁹

O aerossol é, primeiramente, aquecido para vaporizar o solvente que, posteriormente, é removido por meio de um condensador que está numa temperatura perto do ponto de fusão do solvente, por exemplo, a 0-2°C para a água. Sob as condições operacionais usuais para este nebulizador, a eficiência de nebulização é tão alta que sem dessolvatação, o aerossol esfria o canal axial do ICP de tal forma que o desempenho analítico do plasma é prejudicado. Para reduzir a sobrecarga do plasma, as partículas do aerossol são dessolvatadas de modo que somente particulados desidratados e água residual são injetados.⁴⁰ O sistema de dessolvatação geralmente usado está esquematicamente apresentado na Figura 7.

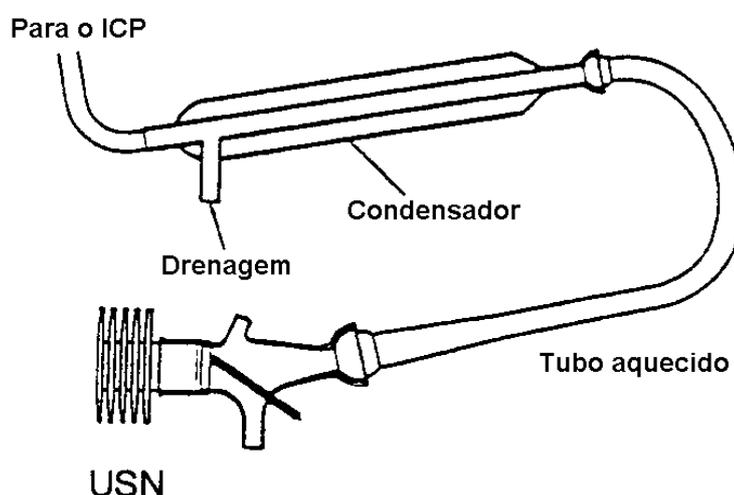


Figura 7 - Desenho esquemático do dessolvatador convencional utilizado no nebulizador ultra-sônico (USN). Adaptada de Houk *et al.*⁴⁰

Nebulizadores ultra-sônicos produzem aerossóis com tamanho de partícula menor e com distribuição de tamanho de partícula mais uniforme do que os nebulizadores pneumáticos. Estes tamanhos de partícula, que são mais facilmente transportados, resultarão no transporte e injeção de uma maior fração no plasma (até 10-20% para nebulização ultra-sônica e aproximadamente 1-2% para nebulização pneumática) do aerossol inicial, aumentando o poder de detecção, ou seja, a sensibilidade. Este alto poder de detecção torna possível:

- executar determinações quantitativas abaixo dos limites de detecção obtidos com outros tipos de nebulização;
- reduzir a necessidade do uso de métodos de pré-concentração em amostras com baixas concentrações dos analitos e, dessa maneira, evitar possíveis erros provenientes de contaminações, pelo excessivo tratamento dado à amostra;
- uma maior diluição das amostras para reduzir efeitos entre os elementos residuais.³⁹

Geralmente, a remoção dos interferentes é mais eficiente que os procedimentos de correções para a minimização das interferências em ICP-MS. Os íons poliatômicos mais problemáticos contêm freqüentemente átomos do solvente. Assim sendo, a redução da quantidade de solvente encaminhada ao plasma, diminui a formação de muitos íons poliatômicos interferentes. O sistema de dessolvatação usado com o nebulizador ultra-sônico atenua a formação de íons poliatômicos contendo oxigênio, os quais causam interferência espectral.⁴⁰

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Condições para as determinações por ETAAS

3.1.1 – Instrumental e processamento da amostra

Todas as medidas foram obtidas com o espectrômetro de absorção atômica Aanalyst 100 da Perkin-Elmer, equipado com corretor de fundo de lâmpada de arco de deutério, com atomizador eletrotérmico HGA-800 e amostrador automático modelo AS-72. O sistema é gerenciado por microcomputador com programa AA Winlab em ambiente Windows. Áreas de pico corrigidas do sinal de fundo foram usadas para monitorar o sinal analítico. Tubos de grafite revestidos piroliticamente (Perkin Elmer) foram utilizados em todos os experimentos, sendo que para As e Ni o tubo foi o de nº B0109322 e a plataforma nº B010932, para Cd e Pb foi o tubo de nº B3001262 com plataforma integrada. Utilizou-se no sistema argônio como gás de purga e de refrigeração, com pureza de 99,996% da White Martins do Brasil. Lâmpadas de cátodo oco (Perkin Elmer) foram empregadas como fontes de radiação. Os parâmetros operacionais do instrumento estão indicados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para as determinações de As, Cd, Ni e Pb por ETAAS.

	As	Cd	Ni	Pb
Comprimento de onda (nm)	193,7	228,8	232,0	283,3
Fenda (nm)	0,7	0,7	0,2	0,7
Corrente da lâmpada (mA)	18	4	25	10

A Tabela 4 apresenta a seqüência do processamento empregado para a determinação de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH e HNO₃, por ETAAS. O

modificador químico empregado para As e Cd foi o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, em solução contendo de 3 g L^{-1} de Pd; para o Pb, além do $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, também se empregou simultaneamente o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ em solução de 40 g L^{-1} do modificador. Para o Ni não foi empregado modificador químico. A solução do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ foi preparado em HNO_3 4,5% v/v.

Tabela 4 – Seqüência de procedimento para a determinações de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH e HNO_3 , por ETAAS.

Etapa	TMAH		HNO ₃
	As, Cd e Pb	Ni	As, Cd, Ni e Pb
A	Pipetar modificador(es)	Pipetar diluente e amostra/padrão	Pipetar modificador(es) e amostra/padrão
B	Lavar o pipetador	Processar todas as etapas do programa de tempo e temperatura	Processar todas as etapas do programa de tempo e temperatura
C	Processar etapas 1 e 2 do programa de tempo e temperatura	---	---
D	Pipetar diluente e amostra/padrão	---	---
E	Processar todas as etapas do programa de tempo e temperatura	---	---

A Tabela 5 apresenta os volumes de diluente, modificador, solução analítica e amostra introduzidos no tubo de grafite, para a determinação de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH, por ETAAS. Para a calibração do equipamento em meio alcalino, foram utilizadas soluções analítica preparadas em meio aquoso e o ajuste da quantidade de TMAH introduzida no tubo de grafite tanto para as soluções analíticas como

amostras, foi realizado com o emprego de uma solução de TMAH na forma de diluente. O volume total de solução introduzida no tubo de grafite foi sempre o mesmo para a obtenção das curvas analíticas e determinação do analito na amostra. Para tanto, a própria água desionizada foi também usada como diluente, quando necessário.

Tabela 5 – Volumes de solução (μL) introduzidos no tubo de grafite para a determinação de As, Cd, Ni e Pb na presença de TMAH, por ETAAS.

	As		Cd		Ni		Pb	
	AS	A	SA	A	SA	A	SA	A
Diluente	10	10	20	0	30	10	10	10
Modificador(es)	10	10	10	10	0	0	5	5
Amostra(A)/Solução Analítica(SA)	30	30	20	40	20	40	20	20

Os programas de temperatura para determinação de As, Cd, Ni e Pb por ETAAS estão apresentados nas Tabelas 6, 7, 8 e 9, respectivamente.

Tabela 6 – Programa de temperatura e tempo para determinação de As por ETAAS.

*Leitura nesse passo.

Etapa	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Aquecimento (s)	Vazão de Argônio (mL min^{-1})
1 Pré-secagem	90	10	40	250
2 Secagem	120	10	40	250
3 Pirólise	1600	10	35	250
4 Resfriamento	20	1	15	250
5* Atomização	2300	0	5	0
6 Limpeza	2650	1	5	250

Tabela 7 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Cd por ETAAS.

*Leitura nesse passo.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Aquecimento (s)	Vazão de Argônio (mL min⁻¹)
1 Pré-secagem	120	5	20	250
2 Secagem	200	10	25	250
3 Pré-pirólise	350	10	10	250
4 Pirólise	600	15	25	250
5* Atomização	1500	0	5	0
6 Limpeza	2600	1	5	250

Tabela 8 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Ni por ETAAS.

*Leitura nesse passo.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Aquecimento (s)	Vazão de Argônio (mL min⁻¹)
1 Pré-secagem	90	5	40	250
2 Secagem	120	25	20	250
3 Pirólise	1300	1	30	250
4 Resfriamento	20	1	15	250
5* Atomização	2400	0	6	0
6 Limpeza	2650	1	5	250

Tabela 9 – Programa de temperatura e tempo para determinação de Pb por ETAAS.

*Leitura nesse passo.

	Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Aquecimento (s)	Vazão de Argônio (mL min⁻¹)
1	Pré-secagem	120	5	10	250
2	Secagem	200	10	25	250
3	Pré-pirólise	350	10	10	250
4	Pirólise	900	15	25	250
5*	Atomização	1900	0	4	0
6	Limpeza	2600	1	5	250

Para a preparação das amostras por digestão ácida, foi utilizado um bloco digestor Tecnal®, modelo TE-40/25.

3.1.2 – Reagentes, soluções e material de referência

No preparo de todas as soluções e amostras utilizou-se água desionizada, com resistividade de 18 MΩcm, obtida a partir do sistema de purificação de água Milli-Q® (Millipore). O HNO₃ empregado foi destilado, abaixo de seu ponto de ebulição, em um destilador de quartzo. As soluções analíticas utilizadas para a obtenção das curvas analíticas, foram preparadas a partir de soluções intermediárias contendo 5 µg mL⁻¹ de As, 2 µg mL⁻¹ de Pb, 125 µg L⁻¹ de Cd e 2,5 µg mL⁻¹ de Ni, todas preparadas a partir de solução estoque da Spex contendo 1000 µg mL⁻¹ de todos os analitos. As soluções analíticas foram preparadas em HNO₃ 5% v/v, quando o dissolvente da amostra era o HNO₃.

Foi utilizado TMAH 25 m/v em água (Riedel-de Haën, nº 1835).

Os modificadores químicos utilizados foram $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ para absorção atômica, 10000 mg L⁻¹ de Pd em HNO_3 15% v/v (Perkin Elmer, nº B0 190 635) e fosfato de amônio monobásico p.a. (Merck, Art. 1126).

Para a dissolução ácida (digestão) da amostra foram utilizados HNO_3 bidestilado e Perhidrol®, 30% de H_2O_2 (Suprapur Merck, Art. 7210).

Para a validação da metodologia desenvolvida foi utilizada a amostra de cabelo humano certificada GBW 09101, proveniente do Shanghai Institute of Nuclear Research, China.

3.1.3 – Preparação das amostras reais

A Figura 8 apresenta o fluxograma do procedimento empregado na análise dos elementos traço nas amostras reais de cabelo humano, sendo que todas as etapas de preparação das amostras serão descritas posteriormente. A amostra certificada de cabelo humano (GBW 09101), é conduzida diretamente às etapas de solubilização com TMAH ou digestão ácida.

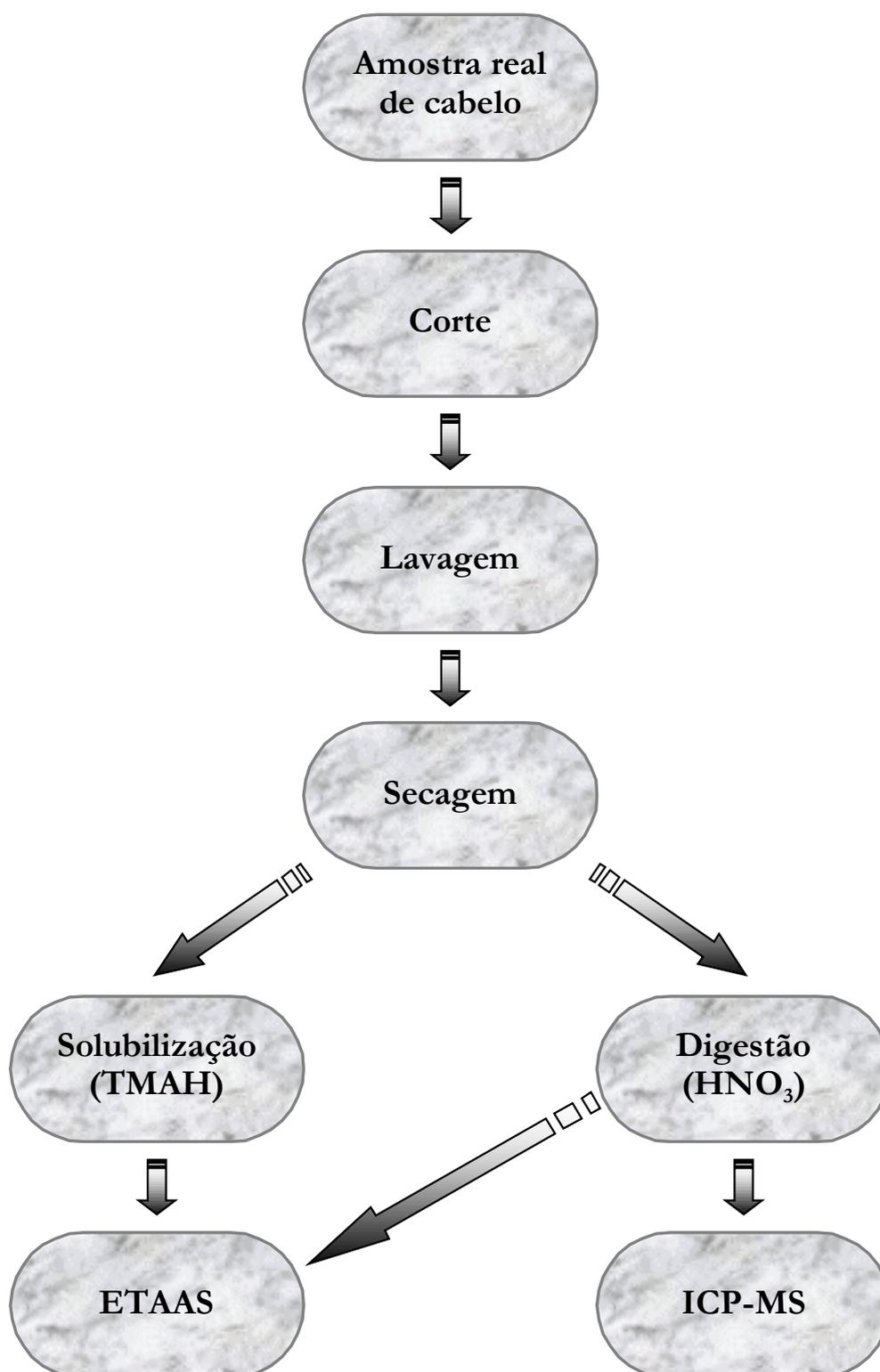


Figura 8 – Fluxograma do procedimento empregado na análise de cabelo humano para a determinação de elementos traço.

3.1.3.1 - Coleta das amostras reais de cabelo humano

Amostras de cabelo, sem tintura e de pigmentação uniforme, foram coletadas em salão comercial, sendo o corte feito com tesoura de aço inoxidável (para minimizar as possíveis contaminações introduzidas pelo material constituinte da tesoura). A amostragem foi representativa para todas as regiões da cabeça, coletando-se aproximadamente 2 g de cabelo, com segmentos de até no máximo 2 cm de comprimento. As amostras foram convenientemente guardadas em vasilhas de plástico secas e limpas.

3.1.3.2 – Lavagem das amostras reais

A lavagem das amostras foi realizada com base no método descrito por Borella *et al.*¹⁵, neste método, o cabelo foi cortado em pequenos segmentos com tesoura de aço inoxidável e a amostra foi homogeneizada. Aproximadamente 1 g da amostra de cabelo foi colocada, em um Erlenmeyer de 500 mL. Depois foram adicionados 250 mL da solução de lavagem (Triton X-100 a 1% v/v) e conteúdo agitado durante 30 min. Posteriormente o cabelo foi filtrado, lavado com água desionizada e secado à temperatura ambiente, na presença de desumidificador.

3.1.3.3 – Solubilização em meio de TMAH

Pesaram-se aproximadamente 125 mg da amostra em um tubo plástico de centrífuga da Sarstedt (nº 62.548.054), com volume de 50 mL. Foram adicionados 500 µL de uma solução de TMAH 25% m/v, permanecendo o tubo fechado até a completa solubilização da amostra. O final da solubilização foi indicado pela obtenção de uma solução escura na cor do cabelo. À temperatura ambiente, o tempo aproximado de solubilização foi de 2 h e, com aquecimento em banho-maria entre 60-70°C, foi de 10 min. Uma vez dissolvida a amostra, o volume do frasco foi completado a 50 mL com água. Para a determinação de As, a solubilização foi realizada em balão volumétrico de

5 mL, devido à baixa concentração de As nas amostras e ao relativamente alto limite de detecção da técnica.

3.1.3.4 – Abertura em meio ácido

A abertura das amostras por digestão ácida foi realizada com base no método desenvolvido por Miekelay *et al.*¹¹, conforme segue: pesaram-se, 250 mg de amostra em tubo digestor, adicionaram-se 2,5 mL de ácido nítrico, e deixou-se em repouso em tubo fechado, sem atarraxar e por 12 h. Posteriormente as amostras foram aquecidas em bloco digestor a 50-60 °C por 1 h. Quando o resíduo mostrou-se muito viscoso, adicionou-se mais 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (sobre o resíduo ainda morno) e levou-se novamente a amostra ao bloco digestor a 50-60 °C por mais 10 min. Restando resíduo, deixou-se a amostra mais tempo no bloco digestor; ocorrendo precipitação, aumentou-se a quantidade de peróxido (2 ou 3 mL, raramente necessário). O final da digestão foi indicado pela obtenção de uma solução amarelo-clara transparente. A solução resultante da digestão foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, sendo o volume deste completado até a marca com água.

3.1.4 – Lavagem do material de laboratório

Inicialmente o material (vidraria e frascos de plástico) é lavada com água destilada, posteriormente é deixada em contato com uma solução de ácido nítrico a 10% v/v durante 48 h, em seguida lavado com água desionizada e finalmente secado à temperatura ambiente.

3.1.5 – Procedimento de preparação do material certificado

Para a validação da metodologia desenvolvida, realizou-se a análise de uma amostra de cabelo humano certificado (GBW 09101), submetido à solubilização com

TMAH e à abertura com $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, sendo a análise feita em triplicata para o branco e amostra. As amostras reais após serem coletadas, foram submetidas ao processo descrito na Figura 8. As concentrações dos analitos foram medidas, empregando-se a calibração pelo método da curva analítica.

3.2 – Condições para as determinações por ICP-MS

3.2.1 - Instrumental

Todas as medições foram efetuadas em um espectrômetro de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado, modelo Elan 6000 da Perkin Elmer – Sciex, com analisador de massa do tipo quadrupolo. O sistema é gerenciado por microcomputador com programa multitarefas Windows NT. Um nebulizador pneumático tipo “cross-flow” e um nebulizador ultra-sônico de fluxo contínuo (CETAC U-5000AT⁺) foram empregados para a geração do aerossol, e uma bomba peristáltica multicanal Gilson foi utilizada para a aspiração da amostra. O gás empregado no sistema foi argônio comercial. Após o processo de nebulização, a amostra passa por uma tocha de quartzo com injetor de alumina padrão. Para detecção iônica, o instrumento é equipado com um multiplicador de elétrons de dinodos discretos com dois estágios. Seguindo as instruções do manual do equipamento, realizou-se a “Daily Performance” (teste para verificar as condições instrumentais), para verificar a resposta do desempenho do instrumento. As especificações de desempenho típicas são apresentadas na Tabela 10. Esta tem como objetivo a otimização do ponto de amostragem dos íons no plasma, bem como a vazão do gás nebulizador.

Tabela 10 – Especificações de desempenho típicas para “Daily Performance” do ELAN 6000. Adaptada de Elan-Training.³⁸

Analito, 10 µg L⁻¹	Intensidade do Sinal
fundo, m/z 220	< 30 cps
Rh	> 150.000 cps
Mg	> 20.000 cps
Pb	> 100.000 cps
CeO ⁺ /Ce ⁺	≤ 0,03
Ba ²⁺ /Ba ⁺	≤ 0,03

Se o desempenho for satisfatório pode-se proceder às análises. Caso as especificações não tenham sido encontradas, pode-se reduzir o sinal dos óxidos diminuindo-se a vazão do gás nebulizador e aumentando-se a potência de radio frequência. O sinal dos íons de carga dupla pode ser diminuído reduzindo-se a potência de radio frequência. De uma maneira, geral, todos os sinais podem ser melhorados (aumento do sinal dos íons de carga simples e diminuição do sinal dos íons óxidos e/ou de carga dupla) aumentando-se a voltagem da lente iônica. Como os valores obtidos encontravam-se dentro das especificações do fabricante, procedeu-se às análises. Os parâmetros operacionais do instrumento utilizados para as análises estão relacionados na Tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros operacionais do instrumento Elan 6000. PN : nebulizador pneumático e USN : nebulizador ultra-sônico.

Parâmetros operacionais	PN	USN
Cone e “skimmer”	Platina	Platina
Vazão do gás nebulizador	0,965 L min ⁻¹	0,7 L min ⁻¹
Taxa de aspiração da amostra	1,5 mL min ⁻¹	2,5 mL min ⁻¹
Potência do gerador RF	1000 W	1000 W
Potencial da lente iônica para o Rh	7,2 V	6,8 V
Potencial do detector: <i>pulso</i>	1700 V	1700 V
<i>analógico</i>	- 2100 V	- 2100 V
Modo de leitura	“Peak Hopping”	“Peak Hopping”
“MCA Channels”	1	1
Tempo de permanência	25 ms	25 ms
Tempo morto	35 ns	35 ns
Varreduras por leitura	25	25
Leituras por replicata	2	2
Replicatas	2	2
Operação do detector	“Dual”	“Dual”
Unidade de medida	cps	cps
Processamento do sinal	Média	Média
“Auto lens”	“On”	“On”
dessolvatação	-----	125°C
condensação	-----	0°C

3.2.2 – Reagentes, soluções e material de referência

No preparo de todas as soluções e amostras utilizou-se água desionizada e HNO₃ conforme já descrito no item 3.1.2. Para a determinação do analito usou-se a calibração pelo método da curva analítica (calibração externa), sendo as soluções analíticas obtidas a partir das seguintes soluções estoque multielementares:

- ICP IV (Merck, nº 1.11355.0100) contendo Co, Cr, Mg, Mn, Cu, Sr, Pb, Ni, Cd e Al;
- ICPMS 3 (SPEX, nº 7647-01-0) contendo Ir, Pd, Rh e Ru.
- Solução de Hg, As e Se preparadas a partir da dissolução de reagentes de alta pureza da SPEX, em HNO₃ 5% v/v.

A concentração dos analitos nestas soluções estoque é 10 µg L⁻¹, para todos os analitos.

As soluções analíticas foram preparadas em HNO₃ 0,5% v/v, sendo a concentração dos mesmos 0,1 a 0,5 µg L⁻¹ para As, Se, Ir, Pd, Rh e Ru; 0,5 a 2,5 µg L⁻¹ para Hg e 1 a 5 µg L⁻¹ para Co, Cr, Mg, Mn, Cu, Sr, Pb, Ni, Cd e Al.

Outros reagentes e materiais usados já foram citados em 3.1.2.

3.2.3 – Preparação das amostras

Idem ao item 3.1.3, exceto para a etapa de solubilização com TMAH, que não foi realizada, tendo-se em vista que a introdução de matéria orgânica no plasma é problemática. A matéria orgânica neste caso seria procedente da amostra e do próprio reagente.

3.2.4 – Correções de interferência isobáricas

A correção das interferência espectrais sobre o ⁵⁸Ni, ⁸²Se e ¹¹⁴Cd foi feita pelo próprio “software” do ELAN 6000, através das seguintes equações elementares.

$$^{58}\text{Ni}: - (A^{58\text{Fe}}/A^{56\text{Fe}}) \cdot I^{56\text{Fe}} = -0,003053 * I^{56\text{Fe}} \quad \text{eq. 2}$$

$$^{82}\text{Se}: - (A^{82\text{Kr}}/A^{83\text{Kr}}) \cdot I^{83\text{Kr}} = -1,008696 * I^{83\text{Kr}} \quad \text{eq. 3}$$

$$^{114}\text{Cd}: - (A^{114\text{Sn}}/A^{118\text{Sn}}) \cdot I^{118\text{Sn}} = -0,026826 * I^{118\text{Sn}} \quad \text{eq. 4}$$

3.2.5 – Procedimento de preparação das amostras

Após a coleta das amostras reais, estas foram submetidas aos processos de lavagem e à abertura já descritos em 3.1.3.2 e 3.1.3.4, respectivamente. Para as leituras

no ICP-MS via nebulização pneumática e ultra-sônica, as amostras foram diluídas 10 vezes, sendo utilizada a calibração pelo método da curva analítica (calibração externa).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Otimização das condições do forno

Inicialmente foram feitos testes quanto a menor quantidade de amostra a ser usada na análise, baseando-se na concentração dos elementos da amostra certificada. Assim, para Ni, Cd e Pb, 0,125 mg de amostra de cabelo num volume final de 50 mL, obteve-se bom sinal de absorvância. Já para As, devido à baixa concentração do elemento na amostra e ao relativamente alto LD da técnica, uma absorvância razoavelmente maior do que a do branco só foi obtida para um volume final de 5 mL. Uma massa maior não foi usada devido à alta viscosidade da solução resultante. Já na solução resultante da digestão ácida da amostra o sinal do As foi menor do que o sinal do branco, não podendo ser medida a sua concentração.

A escolha dos modificadores foi feita de acordo com as recomendações do fabricante. Assim, foram investigados os efeitos dos modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, individualmente, ou dois de cada vez. Com a adição simultânea de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ o sinal atômico do Pb foi o mais alto, além de se observar uma diminuição do sinal do fundo. Assim sendo, estes dois modificadores, usados simultaneamente, foram selecionados para a determinação de Pb. Quando foi usada a mistura universal de modificadores $[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2]$, também recomendada pelo fabricante, ou somente $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, o sinal atômico de Pb foi menor e sinal do fundo maior. Já o $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, usados simultaneamente ou separadamente, não fixaram o Pb no tubo de grafite a fim de possibilitar o emprego de temperaturas de pirólise suficientemente altas para a remoção da matriz. Estudo semelhante ao do Pb foi feito para os outros analitos, assim o modificador químico escolhido para As e Cd foi o $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$. Para Ni, nenhuma melhoria de sinal foi

observada da presença dos modificadores químicos, assim a determinação deste elemento foi feita na ausência de modificador químico.

Uma vez que amostras biológicas decompõem-se termicamente produzindo muita fuligem e fumaça, a etapa de pirólise deve ser bem estudada com a finalidade de remover tanto quanto possível a matriz da amostra antes da atomização do analito, diminuindo a possibilidade de interferência química e reduzindo a magnitude do sinal do fundo. O sucesso de uma análise depende do estabelecimento das condições corretas de pirólise.

Dois objetivos conflitantes devem ser observados quando se determina o tempo e a temperatura ideal de pirólise:

- Um tempo de pirólise suficientemente longo e uma temperatura de pirólise suficientemente alta, deveriam ser usados para volatilizar, tão completamente quanto possível, qualquer interferente ou aerossol, produzidos pelos componentes da matriz.
- O tempo de pirólise deve ser suficientemente curto e a temperatura suficientemente baixa para garantir que não ocorra qualquer perda do analito nesta etapa.

Estes objetivos podem ser usualmente satisfeitos para elementos (ou compostos) de baixa volatilidade em matrizes que são facilmente carbonizadas ou volatilizadas a baixas temperaturas.³³

Na Figura 9 estão apresentadas as curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) obtidas para o Cd, em meio de TMAH, com e sem a presença do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, e em meio de HNO_3 na presença deste modificador. Para obter a curva de T_p , fixou-se a temperatura de atomização em 1600 °C e a curva T_a foi obtida com T_p de 600 °C. Como pode se observar pela figura, o uso do modificador químico estabiliza termicamente o analito e permite, desta maneira, a utilização de uma T_p mais alta, uma vez que as maiores temperaturas são desejadas para destruir a matriz sem perdas do sinal do analito. A T_a empregada foi escolhida de maneira que o máximo sinal fosse obtido para o analito na menor temperatura possível, para minimizar o desgaste do tubo de grafite, pois temperaturas muito altas reduzem a vida útil do tubo. Uma vez que ficou evidenciada a melhoria proporcionada pelo modificador químico para este metal em meio de TMAH, não foram realizados

estudos da T_p e T_a , na ausência do modificador químico e na presença de HNO_3 . Ainda, com relação à Figura 9 pode-se salientar, que tanto em meio ácido, quanto em meio básico, as curvas de T_p e T_a são semelhantes, o que possibilita o emprego do mesmo programa temperatura-tempo para ambos os reagentes, usados para a preparação de amostra. A partir das curvas apresentadas nesta figura, a T_p de 600 °C foi selecionada e empregada nas medidas posteriores, pois nessa temperatura não se observou mais sinal de fundo significativo, assegurando que a matriz já havia sido removida satisfatoriamente antes da etapa de atomização do analito. A T_a escolhida foi 1500°C, também de acordo com a Figura 9.

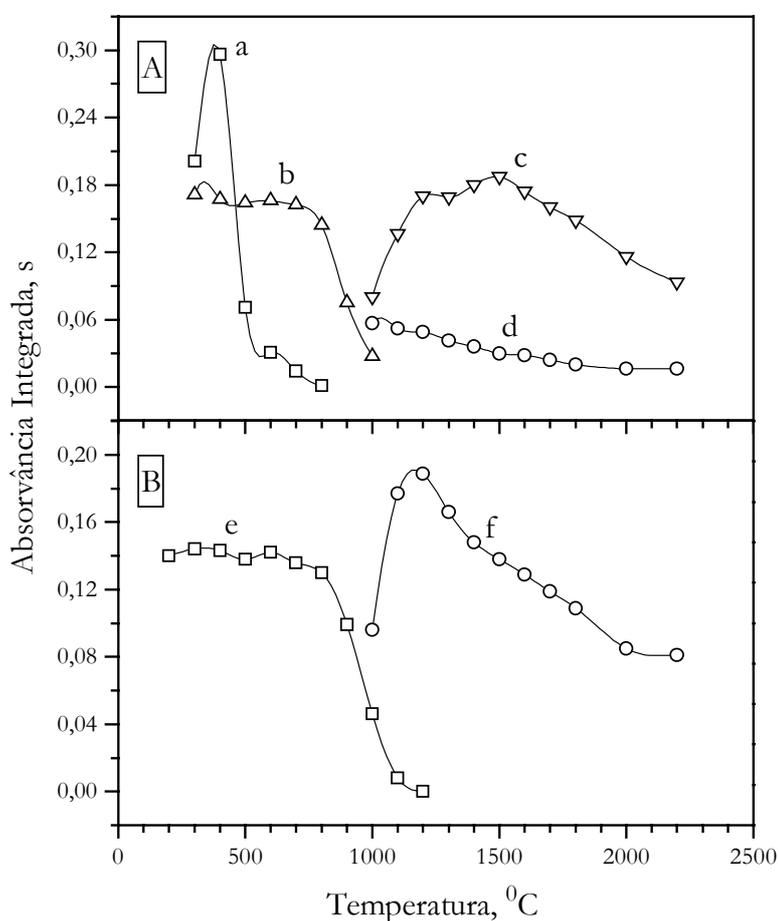


Figura 9 – Curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) para 9,5 pg de Cd em [A] meio de TMAH 0,25% m/v e [B] em meio de HNO_3 5% v/v. (a) curva de T_p , sem modificador químico, (b) e (e) curva de T_p , com 30 µg de Pd, (c) e (f) curva de T_a , com 30 µg de Pd e (d) curva de T_a , sem modificador químico.

Na Figura 10 estão apresentadas as curvas de T_p e T_a obtidas para o Pb, em meio de TMAH e de HNO_3 , com o uso simultâneo dos modificadores químicos $Pd(NO_3)_2$ e $NH_4H_2PO_4$, e em meio de TMAH, sem modificador. Para a obtenção da curva T_p , a temperatura de atomização foi fixada em 1800 °C e a curva T_a foi obtida com T_p de 900 °C. Os comportamentos das curvas de T_p e T_a são semelhantes aos já discutidos para o Cd (Figura 9), sendo que a T_p de 900 °C foi selecionada e empregada nas medidas posteriores. A esta temperatura, não se observou mais sinal de fundo significativo. A T_a escolhida para Pb foi 1900 °C.

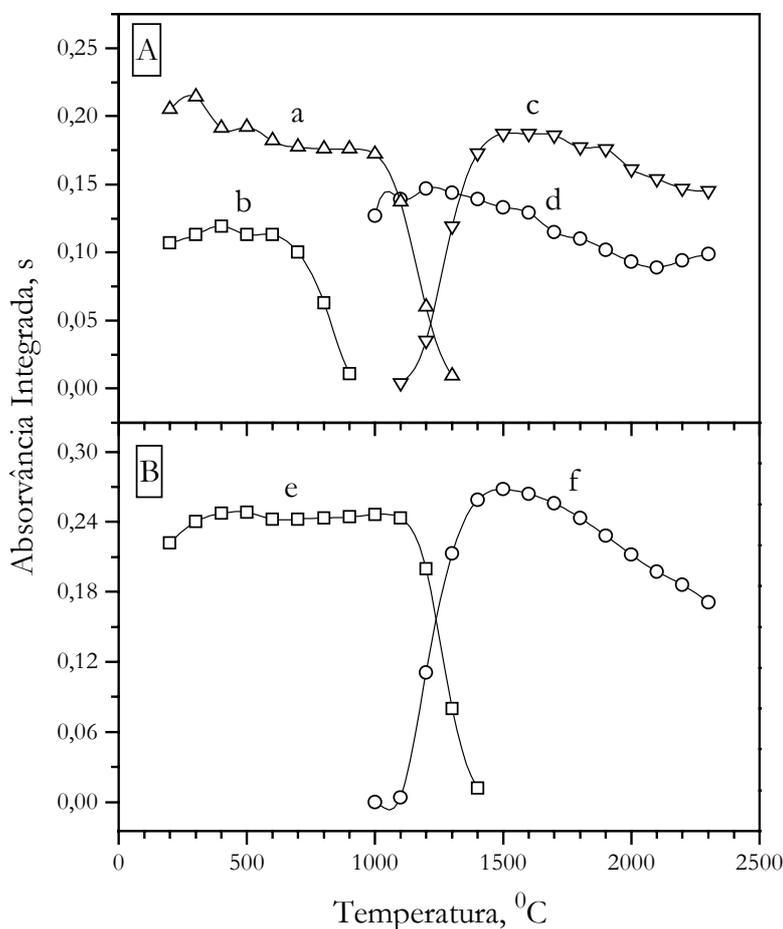


Figura 10 – Curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) para [A] 3,6 pg de Pb em meio de TMAH 0,25% m/v e [B] 7,2 pg de Pb em meio de HNO_3 5% v/v. (a) curva de T_p , sem modificador químico, (b) e (e) curva de T_p , com 15 μg de Pd e 0,2 mg de PO_4^{3-} , (c) e (f) curva de T_a , com 15 μg de Pd e 0,2 mg de PO_4^{3-} e (d) curva de T_a , sem modificador químico.

As curvas de T_p e T_a obtidas para o As, em meio de TMAH, estão apresentadas na Figura 11, empregando o modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$. Para a obtenção da curva T_p a temperatura de atomização foi fixada em $2300\text{ }^\circ\text{C}$ e a curva T_a foi obtida com T_p de $1600\text{ }^\circ\text{C}$. Não foi possível obter-se o sinal do analito sem a presença de sinal de fundo elevado. Assim sendo, procurou-se utilizar uma T_p que produzisse o menor sinal de fundo possível, dentro da faixa de correção do equipamento e sem perda significativa da sensibilidade. Desta forma, a T_p de $1600\text{ }^\circ\text{C}$ foi selecionada e empregada nas medidas posteriores. Nota-se ainda na Figura 11 que para T_a acima de $2400\text{ }^\circ\text{C}$, o sinal do analito aumenta, mas o sinal do fundo também aumenta. Tendo-se em vista estes efeitos, a T_a escolhida foi $2300\text{ }^\circ\text{C}$.

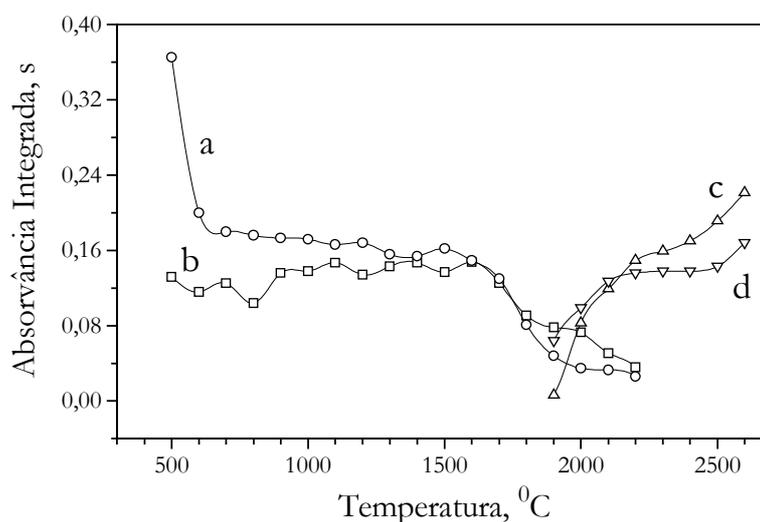


Figura 11 – Curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) de $4,5\text{ }\mu\text{g}$ de As em meio de TMAH $2,5\%$ m/v, com $30\text{ }\mu\text{g}$ de Pd. (a) curva de T_p , (b) sinal de fundo durante a otimização da T_p , (c) curva de T_a e (d) sinal de fundo durante a otimização da T_a .

As curvas de T_p e T_a obtidas para o Ni, sem o uso de modificador químico, em meio de TMAH $0,25\%$ m/v e HNO_3 5% v/v estão apresentadas na Figura 12. Para a obtenção da curva T_p , a temperatura de atomização foi fixada em $2500\text{ }^\circ\text{C}$ e a curva T_a foi obtida com T_p de $1300\text{ }^\circ\text{C}$. Como se pode observar, tanto em meio ácido, quanto em meio básico, as curvas de T_p e T_a têm, respectivamente, o mesmo comportamento,

o que possibilitou o emprego do mesmo programa temperatura-tempo para ambos os reagentes. No entanto, em meio de TMAH, a sensibilidade é cerca de 60% maior do que em meio ácido, possivelmente porque o analito presente neste meio é parcialmente volatilizado antes da sua atomização ou o TMAH atua como modificador químico. A partir das curvas apresentadas nesta figura, a T_p de 1300 °C foi selecionada e empregada nas medições posteriores, pois nessa temperatura observou-se um menor sinal de fundo. A T_a escolhida foi de 2400 °C, também de acordo com a Figura 12.

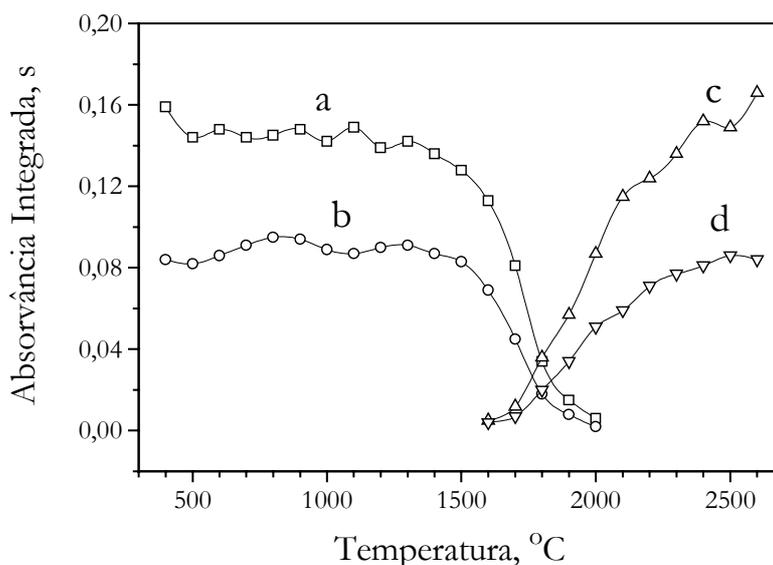


Figura 12 – Curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) obtidas para 5 pg de Ni em meio de TMAH 0,25% m/v e de 3,2 pg de Ni em meio de HNO₃ 5% v/v, sem modificador químico. (a) curva de T_p , em meio de TMAH, (b) curva de T_p , em meio de HNO₃, (c) curva de T_a , em meio de TMAH e (d) curva de T_a , em meio de HNO₃.

Não foi possível determinar a concentração de Se na amostra solubilizada com TMAH, pois como se observa na Figura 13, para o Se presente na solução da amostra, a sensibilidade para o elemento é muito reduzida. Já em solução analítica, também na presença de TMAH, este introduzido no tubo de grafite separadamente e em quantidade equivalente ao presente na amostra, a sensibilidade é razoável para o Se. Pode-se concluir que há a existência da interferência provocada pela matriz, pois, de alguma maneira, a mesma está suprimindo o sinal do analito. Assim, o LD do Se é alto, inviabilizando a sua determinação em amostras de cabelo, por ETAAS. Também não

foi possível determinar a concentração de As na amostra digerida com ácido, tendo-se em vista à elevada acidez, uma vez que o LD do As é alto em ETAAS, impossibilitando a diluição da solução resultante da digestão.

Também foram feitas tentativas para determinar Hg por ETAAS, empregando-se o modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, conforme proposto por Welz *et al.*⁴¹ Devido à necessidade de uma temperatura de pirólise de no mínimo 600 °C para a completa remoção da matriz, a perda do analito antes da etapa de atomização é inevitável nesta temperatura, pois conforme os autores, esse modificador permite a T_p de até no máximo 450 °C. O modificador não consegue estabilizar o Hg a temperaturas maiores, devido à sua alta volatilidade.

A baixa concentração de Hg presente na amostra de cabelo humano, resultou na necessidade da obtenção de uma solução da amostra contendo alta concentração de matriz, para que fosse possível adequar a concentração do analito com relação ao se LD instrumental. Isto implicou na necessidade de temperatura de pirólise alta e de um intervalo de tempo acima do recomendado pelo autores, para possibilitar a remoção da matriz. A T_p de 600 °C se fez necessária então, no entanto, essa temperatura é muito elevada para a determinação do Hg na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, levando à volatilização do analito antes da etapa de atomização.

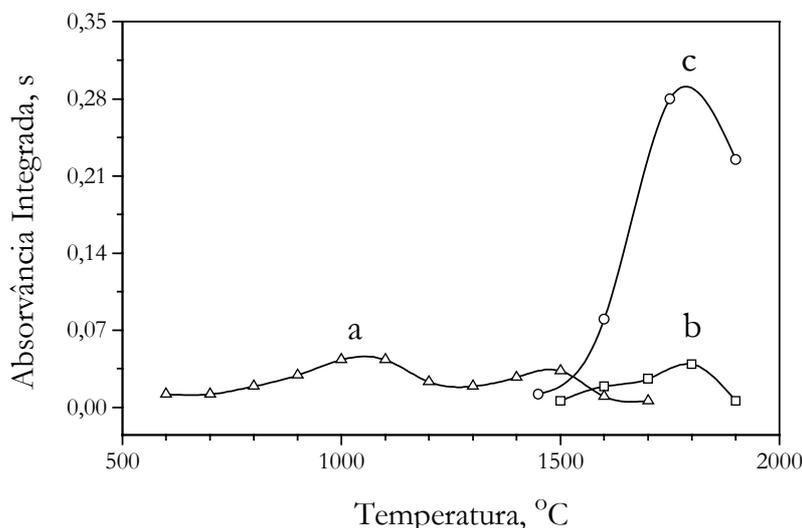


Figura 13 – Curvas de temperaturas de pirólise (T_p) e atomização (T_a) para o Se em meio de TMAH 2,5% m/v, com 30 μg de Pd. (a) curva de T_p para solução da amostra contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se, (b) curva de T_a para solução da amostra contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se e (c) curva de T_a para solução analítica contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se.

Os sinais transientes do As, Cd, Ni e Pb em meio de TMAH estão apresentados na Figura 14. Como se observa nesta figura, os sinais transientes obtidos para as soluções analíticas foram semelhantes aos da amostra, para cada analito investigado. Isto evidenciou a possibilidade de uso da calibração do equipamento pelo método da curva analítica em meio de TMAH.

Pôde-se comprovar que o programa temperatura-tempo do ETAAS foi otimizado de maneira correta, pois nenhuma interferência de matriz foi evidenciada. Isto porque a temperatura de pirólise empregada removeu, tanto quanto possível, a matriz da amostra antes da etapa de atomização do analito, diminuindo, desta maneira, a possibilidade de interferências químicas e reduzindo a magnitude do sinal de fundo, ficando este ao nível do sinal de fundo da solução analítica.

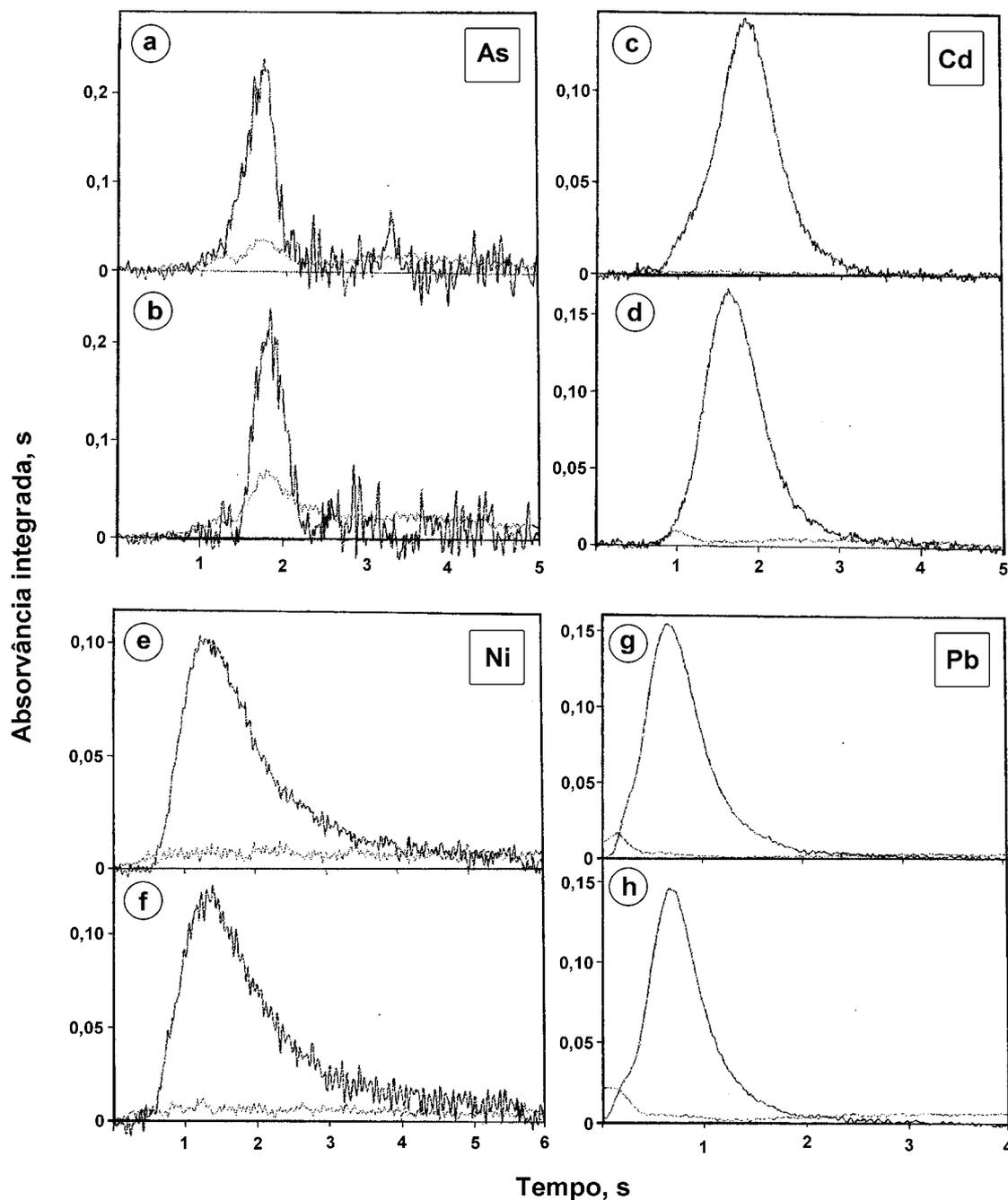


Figura 14 – Sinais transientes dos analitos nas soluções da amostra e soluções analíticas, em meio de TMAH 0,25% m/v para Cd, Ni e Pb e para As em meio de TMAH 2,5% m/v. A linha contínua representa o sinal atômico e a pontilhada o sinal de fundo. (a) solução analítica com $20 \mu\text{g As L}^{-1}$, (b) solução da amostra com $20 \mu\text{g As L}^{-1}$, (c) solução analítica com $1 \mu\text{g Cd L}^{-1}$, (d) solução da amostra com $1,25 \mu\text{g Cd L}^{-1}$, (e) solução analítica com $20 \mu\text{g Ni L}^{-1}$, (f) solução da amostra com $25 \mu\text{g Ni L}^{-1}$, (g) solução analítica com $10 \mu\text{g Pb L}^{-1}$ e (h) solução da amostra com $10 \mu\text{g Pb L}^{-1}$.

4.2 – Durabilidade do tubo de grafite

A durabilidade do tubo de grafite (vida útil) foi definida por Dymott *et al.*⁴², segundo eles, a vida útil de um determinado tubo é o período de uso até o ponto onde:

- o número de ciclos para os quais a sensibilidade atual, comparada com a inicialmente medida, não varia por mais de 25%, ou quando;
- o desvio padrão relativo (RSD) torna-se cinco vezes maior que o medido inicialmente.

Podem ser observados pela Figura 15, que o teste da durabilidade do tubo de grafite, realizado para o Cd na amostra de cabelo humano, mostrou ser possível realizar, pelo menos, 1000 ciclos de leitura do Cd, tanto em meio alcalino como em meio ácido, sem perdas significativas do analito ou aumento significativo do RSD. Isto indica que o TMAH e o HNO₃, na concentração usada, não são nocivos para o tubo de grafite. Não foi realizado o teste para os outros elementos.

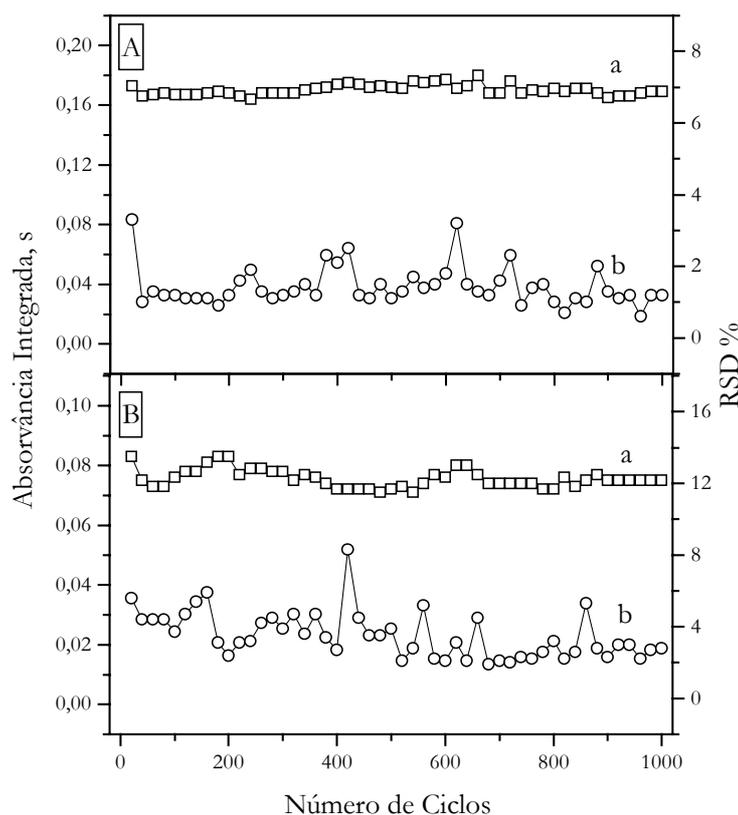


Figura 15 – Vida útil do tubo de grafite, para o Cd na amostra de cabelo humano, em [A] solução da amostra com 1,15 µg L⁻¹ de Cd em HNO₃ 5% v/v e [B] solução da amostra com 0,55 µg L⁻¹ de Cd em TMAH 0,25% m/v. (a) absorvância integrada/s e (b) desvio padrão relativo para cada 20 medidas.

4.3 – Curvas analíticas e figuras de mérito

A Tabela 12 apresenta os parâmetros das curvas analíticas de As, Cd, Ni e Pb obtidas por ETAAS, com seus respectivos intervalos de concentração. Todas as curvas apresentaram bons coeficientes de correlação (R), $R > 0,999$, para todos analitos investigados, e tanto a sensibilidade (a, inclinação da curva), como a massa característica (m_0 , massa que produz uma absorvância integrada de 0,0044 s) foram semelhantes, para os dois métodos de preparação da amostra estudados.

A diferença de m_0 para o As, Cd e Pb, em comparação com o valor informado pelo fabricante do equipamento, pode ser atribuída ao fato de que o valor informado foi obtido a partir de solução analítica convencional, ou seja, em meio de HNO_3 0,2% v/v e uso de lâmpadas EDL, as quais proporcionam uma melhor razão sinal/ruído. A diferença de m_0 pode ser atribuída também ao emprego de um outro modificador químico, que no caso foi o PO_4^{3-} . No entanto, esse modificador químico, mostrou-se menos eficiente na remoção da matriz de cabelo, resultando num sinal de fundo elevado. O Pd mostrou-se mais eficiente na remoção da matriz, minimizando as possíveis perdas.

Tabela 12 – Limites de detecção (LD) e parâmetros das curvas analíticas de As, Cd, Ni e Pb obtidas por ETAAS. IC: intervalo de concentração; m_0 : massa característica; a: inclinação, LD: limite de detecção e R: coeficiente de correlação. *Valor informado pelo fabricante do equipamento.

Analito	IC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	m_0^* (pg)	TMAH				HNO_3			
			a ($\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R	m_0 (pg)	a ($\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R	m_0 (pg)
As	15 - 75	15,0	0,00484	0,875	0,99963	27,3	---	---	---	---
Cd	0,25 - 2,50	0,35	0,13951	0,0225	0,99977	0,63	0,13784	0,01	0,99992	0,64
Ni	5 - 25	13,0	0,00804	0,35	0,9997	10,9	0,00805	0,375	0,99956	10,9
Pb	10 - 50	10,0	0,00503	1,175	0,99991	17,5	0,00496	0,875	0,99986	17,7

A Tabela 13 mostra os coeficientes de regressão linear das curvas analítica e a sensibilidade das mesmas, obtidas por ICP-MS para os analitos em HNO_3 , com a

introdução da amostra no plasma via nebulização pneumática (PN) e ultra-sônica (USN). Observa-se que as curvas analíticas apresentam bons coeficientes de correlação, sendo melhores quando a PN é utilizada. Isto pode ser devido às flutuações da USN, ou pelo tempo de espera na estabilização da nebulização ter sido insuficiente antes da introdução do aerossol no plasma. No entanto, a USN proporciona melhor sensibilidade, em comparação com a PN, ou seja, a sensibilidade aumentou de um modo geral, em mais de três vezes. Desta maneira alguns analitos apresentam limites de detecção (LD) melhores quando a USN é empregada.

Tabela 13 – Parâmetros das curvas analítica dos analitos em HNO₃ 0,5% v/v, obtidas por ICP-MS, utilizando nebulização pneumática (PN) ou ultra-sônica (USN). IC: intervalo de concentração; a: inclinação, R²: coeficiente de correlação ao quadrado, LD: limite de detecção e nd_t: não determinado.

Analito	IC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PN			USN		
		a ($\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	R ²	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	a ($\mu\text{g L}^{-1}$) ⁻¹	R ²	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
²⁴ Mg	1 – 5	8384,48	0,999523	6,6	34070,23	0,999079	39
²⁷ Al	1 – 5	13292,84	0,99999	62	44588,11	0,998549	184
⁵² Cr	1 – 5	20263,06	0,999954	9,6	68461,35	0,999717	5,7
⁵⁵ Mn	1 – 5	31089,76	0,999954	3,6	96173,23	0,999813	11
⁵⁹ Co	1 – 5	25902,29	0,999964	0,90	79507,49	0,999621	0,90
⁵⁸ Ni	1 – 5	13002,92	0,999965	23	41125,08	0,999884	4,5
⁶³ Cu	1 – 5	13262,11	0,999952	6,0	44255,59	0,999713	6,9
⁷⁵ As	0,1 – 0,5	3926,09	0,999924	9,0	8501,04	0,999648	20
⁸² Se	0,1 – 0,5	684,43	0,99925	72	2416	0,998294	86
⁸⁸ Sr	1 – 5	58186,89	0,999943	0,90	163239,9	0,999834	2,4
¹⁰² Ru	0,1 – 0,5	20099,37	0,999955	nd _t	65949,27	0,999659	nd _t
¹⁰³ Rh	0,1 – 0,5	59073,19	0,999922	nd _t	186870,72	0,999927	nd _t
¹⁰⁶ Pd	0,1 – 0,5	11040,36	0,999051	nd _t	53205,44	0,994864	nd _t
¹¹⁴ Cd	1 – 5	13496,22	0,99996	30	32292,79	0,999687	20
¹⁹³ Ir	0,1 – 0,5	35468,09	0,999961	nd _t	122998,86	0,999623	nd _t
²⁰² Hg	0,5 – 2,5	8956,08	0,999662	7,8	18961,59	0,997174	21
²⁰⁸ Pb	1 – 5	39855,35	0,999981	2,7	118853,04	0,999529	4,5

4.4 – Resultados obtidos para a amostra certificada

Os resultados obtidos para as concentrações de As, Cd, Ni e Pb medidas na amostra certificada, por ETAAS, são apresentados na Tabela 14. Observa-se que todos os valores obtidos concordam com os valores certificados, exceto para o Ni em HNO₃. Todos os valores da tabela foram submetidos a testes estatísticos (Teste t de Student e Teste F), podendo-se afirmar com 99% de certeza que não diferença significativa entre o valores certificados e os medidos, exceto para o Ni em HNO₃. Logo, com relação a Cd e Pb os estes estatísticos mostraram, com 99% de certeza, que o novo método desenvolvido não difere significativamente do método de referência.

O As não foi determinado em meio HNO₃, porque a sua concentração na amostra está abaixo do LD. Ainda, pode-se observar nesta tabela, que em meio de TMAH, os desvios padrão relativos foram melhores que em meio de HNO₃, sendo os limites de detecção próximos nos dois meios.

Tabela 14 – Concentrações obtidas para As, Cd, Ni e Pb na amostra certificada (GBW 09101), por ETAAS, a um nível de confiança de 95%; n=15, sendo 5 leituras para cada replicata; V_E: valor encontrado, RSD: desvio padrão relativo, LD: limite de detecção e V_C: valor certificado.

Analito	TMAH			HNO ₃			V _C (µg/g)
	V _E (µg/g)	RSD (%)	LD (µg/g)	V _E (µg/g)	RSD (%)	LD (µg/g)	
As	0,59 ± 0,05	3,4	0,35	---	---	1,75	0,59 ± 0,07
Cd	0,088 ± 0,007	3,4	0,009	0,101 ± 0,022	8,9	0,004	0,095 ± 0,012
Ni	3,22 ± 0,35	4,4	0,14	2,08 ± 0,32	6,5	0,15	3,17 ± 0,40
Pb	7,75 ± 0,37	1,9	0,47	7,85 ± 1,54	7,9	0,35	7,2 ± 0,7

Os resultados obtidos por ICP-MS para as concentrações de Mg, Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, As, Se, Sr, Cd, Hg e Pb na amostra certificada, estão apresentados na

Tabela 15, para ambos os métodos de nebulização utilizados. Os dados da tabela mostram que, para grande parte dos elementos, os valores de concentração encontrados estão em boa concordância com os valores certificados. Os testes estatísticos mostraram que para um limite de confiança de 99%, as medidas das concentrações de Mg, Cu, Se, Al, As, Cd e Pb, com introdução da amostra no plasma via PN, e as de Mg, Mn, Cu, Se, Al, Cd e Hg via USN, não diferem significativamente do valor certificado. Além disso os resultados obtidos para Mg, Cu, Se, Al e Cd nos dois métodos de introdução da amostra no plasma, não diferem significativamente a um nível de confiança de 99%, de acordo com os testes estatísticos empregados. Para o Ni, tanto com PN ou com USN, os valores obtidos ficaram bem abaixo do valor esperado, no entanto, os resultados foram semelhantes ao encontrado por ETAAS para este metal em meio ácido (Tabela 14), numa nova abertura (em triplicata) da amostra de cabelo certificada, indicando que provavelmente ocorre perda de Ni, por formação de um composto volátil, ou composto insolúvel durante a etapa de digestão da amostra.

Outro fato que pode ser ressaltado, é que tanto os resultados de As quanto os de Se não foram bons com o uso da USN; o valor encontrado para o As foi bem acima do esperado, o que pode ter sido ocasionado, talvez, por efeito de memória. O Se apresentou altos RSDs, possivelmente, ocasionados por perdas não reprodutivas do analito durante a etapa de digestão da amostra, pois o metal é bastante volátil, ocasionando variações nas concentrações das três alíquotas e refletindo-se nos RSDs. Para o Hg, o valor encontrado com a PN ficou abaixo do valor certificado, mas com a USN o valor obtido situou-se dentro do intervalo de confiança do valor certificado. Para o Pb, tanto com a PN como com a USN, os valores encontrados ficaram um pouco acima dos certificados, talvez por efeito de memória, sendo mais evidenciado com USN.

Tabela 15 – Concentrações dos analitos na amostra certificada (GBW 09101), utilizando nebulização pneumática (PN) e ultra-sônica (USN) para introdução da amostra no ICP-MS. A incerteza está baseada num intervalo de confiança de 95%; $n = 15$, sendo efetuadas 5 leituras para cada replicata; V_E : valor encontrado; RSD: desvio padrão relativo; LD: limite de detecção e V_C : valor certificado.

Elementos essenciais e outros							
Analito	PN			USN			V_C ($\mu\text{g/g}$)
	V_E ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	LD ($\mu\text{g/g}$)	V_E ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	LD ($\mu\text{g/g}$)	
^{24}Mg	113 ± 7	2,69	0,013	110 ± 7	2,33	0,077	105 ± 6
^{52}Cr	$4,69 \pm 0,02$	0,22	0,019	$3,97 \pm 0,10$	1,13	0,011	$4,77 \pm 0,38$
^{55}Mn	$2,63 \pm 0,10$	1,63	0,0070	$2,81 \pm 0,47$	6,67	0,022	$2,94 \pm 0,20$
^{59}Co	$0,105 \pm 0,007$	2,74	0,0018	$0,113 \pm 0,007$	2,25	0,0018	$0,135 \pm 0,008$
^{63}Cu	$24,3 \pm 1,5$	2,32	0,012	$26,5 \pm 1,7$	2,59	0,013	$23,0 \pm 1,4$
^{82}Se	$0,54 \pm 0,20$	14,67	0,14	$0,30 \pm 0,2$	24,04	0,17	$0,58 \pm 0,05$
^{88}Sr	$4,85 \pm 0,20$	1,69	0,0018	$5,25 \pm 0,35$	2,72	0,0047	$4,19 \pm 0,14$

Elementos tóxicos							
Analito	PN			USN			V_C ($\mu\text{g/g}$)
	V_E ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	LD ($\mu\text{g/g}$)	V_E ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	LD ($\mu\text{g/g}$)	
^{27}Al	$12,4 \pm 0,5$	1,22	0,12	$11,5 \pm 0,7$	2,96	0,36	$13,3 \pm 2,3$
^{58}Ni	$2,12 \pm 0,32$	6,02	0,044	$2,20 \pm 0,30$	5,26	0,0088	$3,17 \pm 0,40$
^{75}As	$0,69 \pm 0,05$	3,18	0,018	$2,62 \pm 0,27$	4,25	0,038	$0,59 \pm 0,07$
^{114}Cd	$0,087 \pm 0,325$	150,44	0,059	$0,099 \pm 0,002$	0,75	0,039	$0,095 \pm 0,012$
^{202}Hg	$0,92 \pm 0,05$	1,76	0,015	$1,95 \pm 0,22$	4,36	0,040	$2,16 \pm 0,21$
^{208}Pb	$8,5 \pm 1,0$	4,38	0,0053	$9,5 \pm 0,7$	3,56	0,0088	$7,2 \pm 0,7$

Como se pode verificar na Tabela 15, de um modo geral, os RSDs são próximos, mas ligeiramente maiores com a USN, comparando-se os dois modos de introdução da amostra no plasma. O caso é mais grave para o Cd, quando a PN é utilizada, apresentando uma grande flutuação nos valores obtidos. Os LDs encontrados para ambos os métodos de introdução da amostra ficaram, de um modo geral, bastante próximos, apesar da maior sensibilidade proporcionada pela USN. O tempo de leitura e de limpeza podem ter sido insuficientes na USN, resultando no aumento dos RSDs.

Para uma melhor comparação entre os valores obtidos e os valores certificados, os resultados apresentados nas Tabelas 14 e 15, também são apresentados na Figura 16. Pode se observar nesta figura, que o valor obtido mais próximo do valor certificado é obtido em meio de TMAH, por ETAAS, para uma concentração próxima a 8, valor esse referente ao Pb. Os coeficientes de correlação mostraram que os maiores desvios ocorrem quando o analito é determinado em meio ácido por ETAAS, como se pode observar na figura, obtendo-se $R = 0,98015$. Os coeficientes de correlação para o analito em meio de TMAH e por PN foram mais concordantes, apresentando $R = 0,99968$ e $R = 0,9997$, respectivamente. Logo, um menor desvio ocorre entre os valores observados e os valores certificados. Para analito em meio ácido quando é introduzido no plasma por USN, o coeficiente de correlação foi 0,99894.

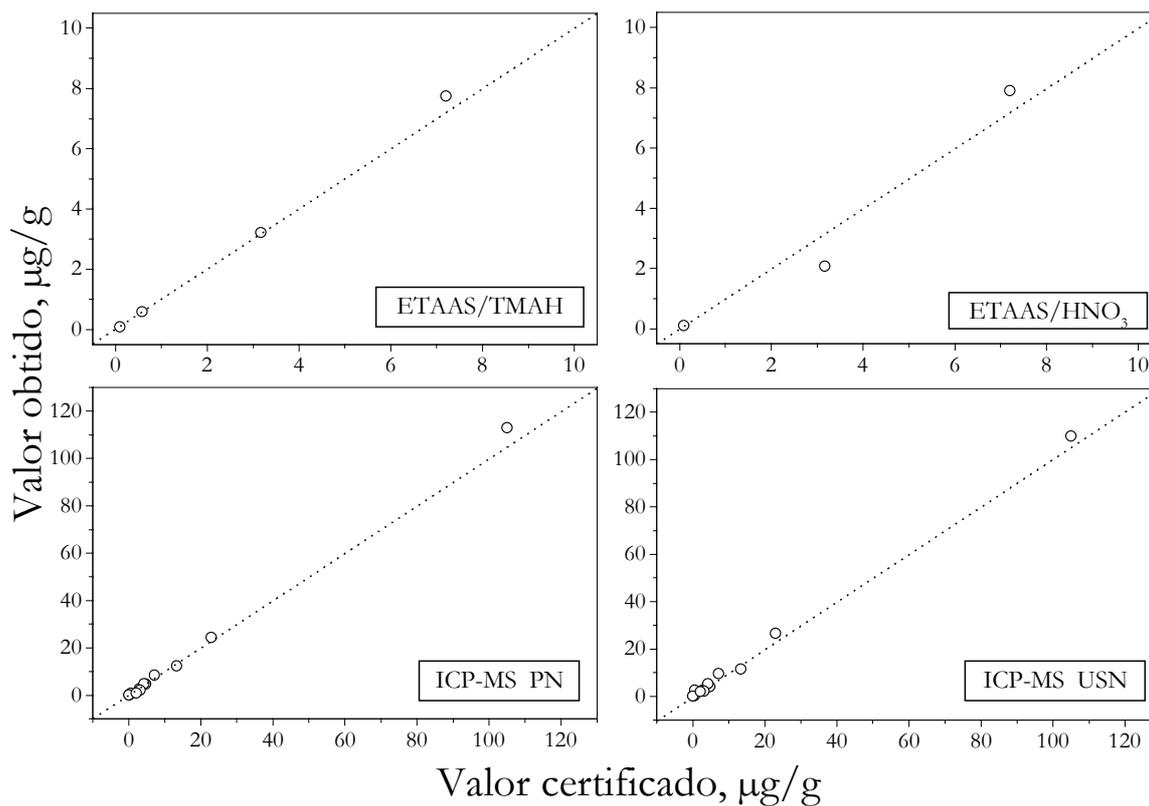


Figura 16 – Correlação entre valores certificados e obtidos por ETAAS e ICP-MS.

A Figura 17 apresenta a correlação entre os valores obtidos por ICP-MS via PN e USN (Tabela 15). Pode-se observar por esta figura, que valores maiores de concentração são encontrados via USN, sendo o $R = 0,99943$, indicando que para maioria dos elementos, os resultados obtidos entre os dois modos de introdução de amostra no plasma são relativamente concordantes.

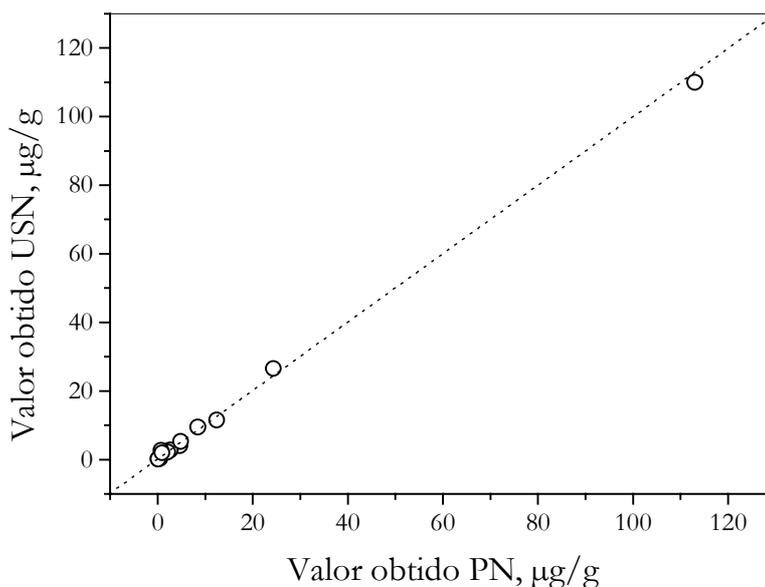


Figura 17 – Correlação entre valores obtidos via nebulização pneumática (PN) e ultra-sônica (USN).

Com base nos testes estatísticos efetuados (Teste t de Student e Teste F), comparando-se os valores certificados, com os resultados obtidos para As e Pb por ETAAS e ICP-MS via PN, e Cd por ETAAS e ICP-MS via USN, não existem diferenças significativas a um nível de confiança de 99%.

4.5 – Amostras reais

A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos para as concentrações de As, Cd, Ni e Pb nas amostras reais, dissolvidas com TMAH, por ETAAS. Os valores obtidos quando, comparados com os intervalos de referência, propostos por Miekeley *et al.*¹¹, estão abaixo do nível de intoxicação, com exceção de As na amostra 3.

Tabela 16 – Concentrações dos analitos nas amostras reais tratadas com TMAH e medidos por ETAAS. Todos os valores são em $\mu\text{g/g}$. PUC-Rio: valores propostos por Miekeley *et al.*¹¹; n = 10.

Analito	Amostras						PUC-Rio ¹¹
	1	2	3	4	5	6	
As	< 0,35	< 0,35	0,44±0,16	< 0,35	< 0,35	< 0,35	< 0,15
Cd	0,085±0,003	0,054±0,004	0,169±0,003	0,056±0,004	0,027±0,001	0,148±0,003	< 0,30
Ni	0,34±0,02	0,27±0,03	0,20±0,04	0,23±0,02	0,42±0,05	0,60±0,03	< 0,60
Pb	0,9±0,1	4,6±0,2	2,1±0,2	1,6±0,1	0,7±0,1	1,9±0,1	< 9,3

0,35 é o LD de As no método

A Tabela 17 apresenta as concentrações obtidas por ICP-MS, usando-se a calibração pelo método da curva analítica, para Mg, Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, As, Se, Sr, Cd, Hg e Pb nas amostras reais 1,2 e 3, tratadas com HNO_3 e utilizando a PN para a introdução da amostra no plasma. Diversos valores de concentração ficaram fora do intervalo de referência e não foram detectados a presença de Ru, Rh, Pd e Ir nas amostras. Os valores obtidos nas amostras reais para o As e Pb em meio de TMAH por ETAAS (Tabela 16) e em meio de HNO_3 por ICP-MS via PN (Tabela 17), podem ser comparados com confiabilidade, e observa-se que os valores foram próximos.

Tabela 17 – Concentrações dos analitos nas amostras reais, tratadas com HNO₃ e medidas por ICP-MS, utilizando a PN para a introdução da amostra no plasma. Todos os valores são em µg/g; n = 10; PUC-Rio: valores propostos por Miekeley *et al.*¹¹

Elementos essenciais e outros				
Analito	Amostras			PUC-Rio¹¹
	1	2	3	
²⁴ Mg	31,6 ± 0,1	32,6 ± 0,3	8,93 ± 0,5	13 - 73
⁵² Cr	3,95 ± 0,23	4,32 ± 0,12	2,46 ± 0,05	< 0,30
⁵⁵ Mn	0,509 ± 0,001	0,226 ± 0,002	0,186 ± 0,012	0,15 - 1,2
⁵⁹ Co	0,0399 ± 0,0026	0,0111 ± 0,0002	0,00694 ± 0,00004	0,003 - 0,03
⁶³ Cu	9,04 ± 0,21	7,39 ± 0,04	10,1 ± 0,052	10 - 32
⁸² Se	0,3323 ± 0,0009	0,33 ± 0,06	0,30 ± 0,08	0,8 - 1,5
⁸⁸ Sr	3,05 ± 0,03	2,225 ± 0,002	0,280 ± 0,013	0,60 - 4,3

Elementos tóxicos				
Analito	Amostras			PUC-Rio¹¹
	1	2	3	
²⁷ Al	13,3 ± 0,3	15,3 ± 0,4	13,2 ± 4,14	< 14
⁵⁸ Ni	< 0,044	< 0,044	< 0,044	< 0,60
⁷⁵ As	0,032 ± 0,006	0,044 ± 0,006	0,18 ± 0,07	< 0,15
¹¹⁴ Cd	0,597 ± 0,761	0,188 ± 0,040	0,282 ± 0,006	< 0,30
²⁰² Hg	0,346 ± 0,037	0,306 ± 0,017	0,345 ± 0,024	< 2,3
²⁰⁸ Pb	0,795 ± 0,004	3,74 ± 0,58	3,26 ± 0,80	< 9,3

0,044 é o LD de Ni no método

As concentrações de Mg, Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, As, Se, Sr, Pd, Cd, Ir, Hg e Pb nas mesmas amostras reais 1, 2 e 3, tratadas com HNO₃ e medidas por ICP-MS, utilizando a USN para introdução de amostra no plasma são apresentadas na Tabela 18. Para diversos elementos, as concentrações também ficaram fora do intervalo de referência e não foram detectados a presença de Rh e Ru nas amostras.

Os valores obtidos para o Cd em meio de TMAH por ETAAS (Tabela 16) e em meio de HNO₃ por ICP-MS via USN (Tabela 18), podem ser comparados com confiabilidade, e se observa que os valores não foram concordantes, porque, os valores de concentração nas amostras reais estão próximos ao limite de detecção obtido pelo ICP-MS via USN, resultando em aumento do valor do desvio padrão, como se observa para a amostra 1. No entanto, os resultados de concentração para o Cd, obtidos por ETAAS em meio de TMAH são mais confiáveis, pois o limite de detecção obtido foi quase 2,5 vezes melhor do que o obtido por ICP-MS com USN.

Tabela 18 – Concentrações dos analitos nas amostras reais, tratadas com HNO₃ e medidas por ICP-MS, utilizando a USN para a introdução da amostra no plasma. Todos os valores são em µg/g; n.a.: não analisado; n = 10; PUC-Rio: valores propostos por Miekeley *et al.*¹¹

Elementos essenciais e outros				
Analito	Amostras			PUC-Rio¹¹
	1	2	3	
²⁴ Mg	36,7 ± 0,3	36,1 ± 1,4	9,58 ± 0,7	13 - 73
⁵² Cr	3,58 ± 0,16	4,01 ± 0,12	1,82 ± 0,06	< 0,30
⁵⁵ Mn	0,496 ± 0,008	0,213 ± 0,012	0,183 ± 0,017	0,15 - 1,2
⁵⁹ Co	0,0425 ± 0,0027	0,0173 ± 0,0002	0,0107 ± 0,0001	0,003 - 0,03
⁶³ Cu	9,06 ± 0,04	7,51 ± 0,15	10,5 ± 0,3	10 - 32
⁸² Se	0,088 ± 0,331	< 0,17	< 0,17	0,8 - 1,5
⁸⁸ Sr	3,07 ± 0,03	2,21 ± 0,99	0,279 ± 0,021	0,60 - 4,3

0,17 é o LD de Se no método

Elementos tóxicos				
Analito	Amostras			PUC-Rio¹¹
	1	2	3	
²⁷ Al	15,4 ± 0,03	17,2 ± 1,0	15,5 ± 5,5	< 14
⁵⁸ Ni	0,441 ± 0,108	0,245 ± 0,028	0,0997 ± 0,0450	< 0,60
⁷⁵ As	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,49 ± 0,18	< 0,15
¹⁰⁶ Pd	0,54 ± 0,02	0,73 ± 0,03	0,63 ± 0,19	n.a.
¹¹⁴ Cd	0,55 ± 0,74	0,030 ± 0,070	0,16 ± 0,05	< 0,30
¹⁹³ Ir	0,0020 ± 0,0003	0,0018 ± 0,0004	0,0030 ± 0,0001	n.a.
²⁰² Hg	1,19 ± 0,10	1,06 ± 0,01	1,09 ± 0,01	< 2,3
²⁰⁸ Pb	0,78 ± 0,03	3,7 ± 0,1	3,3 ± 0,8	< 9,3

A amostra de cabelo quando submetida à abertura ácida, para análise por ICP-MS usando PN ou USN para a sua introdução no plasma, demonstrou ser uma matriz relativamente simples e que não apresenta maiores problemas de efeito de matriz, para a grande maioria dos analitos, uma vez que se obteve resultados concordantes de concentração para a amostra certificada. Os valores das amostras reais, também estiveram em boa concordância entre os dois métodos de introdução de amostra no plasma via nebulização. Dessa maneira, a PN pode ser empregada sem maiores problemas, uma vez que seu custo é bem menor e o consumo de amostra é relativamente mais baixo que na USN. Contudo vale ressaltar, que dependendo do interesse da análise e dos analitos a serem quantificados, como no caso do Mn, Ir, Pd, Cd, Hg e Ni, a USN demonstrou ser mais conveniente do que a PN.

5 – CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados anteriormente algumas conclusões podem ser tiradas para o método proposto de preparação da amostra por hidrólise alcalina:

- O método mostrou-se adequado para análise por ETAAS, permitindo a calibração do equipamento pelo método da curva analítica.
- Este método tem baixo custo, devido ao pequeno consumo de reagente e amostra, emprega pouca vidraria e os materiais utilizados são relativamente simples e comuns em todos laboratórios de química analítica.
- Os limites de detecção encontrados podem ser melhorados, empregando-se uma maior quantidade de amostra e/ou diminuindo o volume final da diluição.
- O método é rápido na preparação da amostra, apresenta menor possibilidade de contaminações e perdas dos analitos mais voláteis, permitindo as quantificações reais de Cd, Ni e Pb nas amostras. Para o As, o método só é aplicável em indivíduos expostos à contaminação pelo metal.
- O método poderia ser empregado para outros elementos, assim como outros tipos de amostras biológicas.

Para o método de preparação da amostra com meio ácido, pode-se concluir que:

- O método mostrou-se adequado para análise de Cd e Pb por ETAAS e para quase todos os analitos investigados por ICP-MS, utilizando a via PN ou a USN para a introdução da amostra no plasma.
- O método requer um maior tempo de preparação, consome mais reagente e amostra e emprega uma quantidade maior de vidraria.
- Apresenta problemas na determinação de Ni e não permite a determinação de As por ETAAS, porque o LD é relativamente alto.
- Não apresenta maiores problemas de efeito de matriz, ou a presença de interferência em ICP-MS, demonstrando que a solução da amostra obtida pela digestão ácida resulta numa matriz relativamente simples, uma vez que se obteve resultados concordantes de concentração, com relação à amostra certificada, para maioria dos analitos investigados, empregando-se a PN e a USN para introduzir a amostra no plasma.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sachs, H., *Forensic Sci. Int.*, **84**, 7 (1997).
2. Toro, E. C., Goeij, J. J. M., Bacso, J., Cheng, Y., Kinova, L., Matsubara, J., Niese, S., Sato, T., Wesenberg, G. R., Muramatsu, Y., Parr, R. M., *J. Radional. Nucl. Chem.*, **2**, 413 (1993).
3. Bozsai, G., *Microch. J.*, **46**, 159 (1992).
4. Bencze, K., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **337**, 867 (1990).
5. Bencze, K., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **338**, 58 (1990).
6. Iyengar, V. and Woittiez, J., *Clin. Chem.*, **34/3**, 474 (1988).
7. Klevay, L. M., Bistrrian, B. R., Fleming, R., and Neumann, C. G., *Am. J. Clin. Nutr.*, **46**, 233 (1987).
8. Chlopicka, J., Zagrodzki, P., Zachwieja, Z., Krosniak, M. and Folta, M., *Analyst*, **120**, 943 (1995).
9. Pozebon, D., Dressler, V. L. and Curtius, A. J., *Quím. Nova*. Em impressão.
10. Arnold, W. and Sachs, H., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **348**, 484 (1994).
11. Miekeley, N., Dias Camargo, M. T. W., Porto da Silveira, C. L. and de Carvalho Fortes, L. M., *Sci. Tot. Env.*, **218**, 9 (1998).
12. Caroli, S., Senofonte, O., Violante, N., Fornarelli, L., and Powar, A. *Microch. J.*, **46**, 174 (1992).
13. Chatt, A. and Katz, S. A., Hair Analysis, Application in the Biomedical and Environmental Sciences, VCH Publishers, New York (1988).
14. Salmela, S., Vuori, E. and Kilpiö, J. O., *Anal. Chim. Acta*, **125**, 131 (1981).
15. Borella, P., Rovesti, S., Caselgrandi, E, and Bargellini, A., *Mikrochim. Acta*, **123**, 271 (1996).
16. Pozebon, D., Dressler, V. L. and Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 1101 (1998).
17. Bakowska, E. and Potter, D., *Application Note 228-301*, Hewlett-Packard Company, Printed in USA **1/95** (43) 5963-5489E.
18. Tsoupras, G., Planitz, P. and Matsuda, M., *Application Note*, Hewlett-Packard Company, Printed in USA **3/98** 5964-0143E.

19. Alder, J. F., Samuel, A. J. and West, T. S., *Anal. Chim. Acta*, **87**, 313 (1976).
20. Stevens, B. J., *At. Spectrosc.*, **4(5)**, 176 (1983).
21. Tsalev, D. L., Dimitrov, T. A., Mandjukov, P. B., *J. Anal. At. Spectrom.*, **5**, 189 (1990).
22. Tsalev, D. L., Slaveykova, V. I. and Georgieva, R. B., *Anal. Lett.*, **29(1)**, 73 (1996).
23. Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineiro, A., Moreda-Pineiro, J. and Bermejo-Barrera, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 301 (1997).
24. Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineiro, A., Romero-Barbeito, T., Moreda-Pineiro, J. and Bermejo-Barrera, A., *Talanta*, **43**, 1099 (1996).
25. Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineiro, A., Romero-Barbeiro, T., Moreda-Pineiro, J. and Bermejo-Barrera, A., *Clin. Chem.*, **42/8**, 1287 (1996).
26. Kubová, J., Hanáková, V., Medved', J. and Stresko, V., *Anal. Chim. Acta*, **337**, 329 (1997).
27. Alloway, B. J. and Ayres, D. C., Chemical Principles of Environmental Pollution. Chapman and Hall, 1 ed., London (1993).
28. Lajunen, L. H. J., Spectrochemical Analysis By Atomic Absorption and Emission, University of Oubu, Finland (1992).
29. Wels, B., Atomic Absorption Spectrometry, 2nd ed., VCH, Weinheim (1985).
30. Perkin Elmer – Hardware Guide. Part number B0993-5242; Publication B320.001.100, Ueberlingen, p. 2-14, 1991.
31. Skoog, D. A. and Leary, J. J., Principles of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, 4. Ed., Orlando (1992).
32. Perkin Elmer – The THGA Graphite Furnace Techniques and Recommended Conditions. Part Number B050-5538; Publication B3210, Ueberlingen, p. 2-6, 2-7, 3, 6 and 3-10, 1991.
33. Perkin Elmer – Analytical Techniques for Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Part Number B010-0180; Publication B332, Ueberlingen, 1991.
34. Schlemmer, G. and Welz, B., *Spectrochim. Acta*, **41B**, 1157 (1986).
35. Vandecasteele, C. and Block, C. B., Modern Methods for Trace Element Determination, New York (1993).
36. Jarvis, K. E., Gray, A. L., Houk, R. S., Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, 1^a ed. Black & Son Ltd., London (1992).

37. Skoog, D. A., Holler, F. J. and Nieman, T. A., Principles of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, 5. Ed., Orlando (1998).
38. Elan-Training – Perkin Elmer.
39. Fassel, V. A. and Bear, B. R.; *Spectrochim. Acta*, **41B(10)**, 1089 (1986).
40. Minnich, M. G., Houk, R. S.; *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 167 (1998).
41. Welz, B., Schlemmer, G. and Mudakavi, J. R., *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 499 (1992).
42. Dymott, T. C., Wassall, M. P. and Whiteside, P. J., *Analyst*, **110**, 467 (1985).