

## 1. Introdução

A água é essencial à vida, é talvez o recurso mais precioso que a terra fornece à humanidade, embora se observe tanta negligência e tanta falta de visão em relação aos cuidados com este recurso natural. Pesquisas mostram que, apesar de todos os esforços, a sua qualidade está se deteriorando a uma taxa cada vez maior, devido à crescente concentração populacional, falta de saneamento básico, poluição industrial, transporte de petróleo e também pela contaminação por metais nos diversos ambientes.

O processo civilizatório, especialmente o aumento da atividade industrial, tem gradualmente mobilizado vários metais e metalóides tóxicos da crosta terrestre, aumentando, assim, a exposição humana a estes elementos. Os problemas de contaminação com metais e metalóides tiveram início nos primórdios da civilização, com o início das atividades, mas realmente acelerado no princípio do século XIX com o processamento dos minerais para a extração dos metais em indústrias químicas e de fundição [1,2], no âmbito da Revolução Industrial.

Na exploração e uso do As podemos ter um bom exemplo deste processo, e a sua presença tem aumentado em certos ambientes naturais devido ao seu largo emprego industrial. O As é um elemento que não desempenha função biológica essencial, além de ser potencialmente tóxico, podendo atingir e prejudicar vários órgãos do corpo humano. [3]

### 1.1 Metais na água do mar

A intervenção humana pode ser considerada como a maior responsável pela magnitude e frequência da disposição dos metais, uma vez que a sua geração e utilização como subproduto nas atividades industriais ocorre em escala exponencial, gerando diversos impactos em nível local e global, levando a um estresse contínuo na natureza e, conseqüentemente, a efeitos agudos ou crônicos à saúde dos ecossistemas e do homem [4].

Apesar desta preocupação ter surgido de modo significativo há apenas poucas décadas, dia após dia, vem tomando novas dimensões dentro dos mais diversos setores da sociedade. A importância da preservação dos recursos hídricos tem levado à necessidade de monitorar e controlar a contaminação destes ambientes, e os metais e metalóides estão entre os contaminantes mais

tóxicos e persistentes do ambiente aquático. Portanto, suas fontes, transporte e destino precisam ser avaliados [5].

Uma vez que os rios deságuam no mar, estes poluentes podem alcançar as águas salgadas e, em parte, depositar-se no leito oceânico. Além disso, os metais contidos nos tecidos dos organismos vivos que habitam os mares acabam também se depositando, no decorrer dos anos, nos sedimentos, o que representa um estoque permanente para a contaminação da fauna e flora aquáticas. Assim, os metais e metalóides podem se acumular em todos os organismos que constituem a cadeia alimentar do homem. Estima-se que, anualmente, morrem cerca de 10 milhões de pessoas no mundo por beber água contaminada, sendo que 70% da população mundial residem nas regiões costeiras. Embora as águas costeiras sejam responsáveis por somente cerca de 0,5% do volume de toda a água do oceano, elas oferecem o *habitat* para metade dos peixes no mundo [6,7].

A interação gerada na descarga de metais pesados em corpos aquáticos pode promover alterações significativas nos comportamentos físicos, químicos e biológicos, tanto do corpo receptor [8], como do próprio metal, em relação ao seu estado original [9,10]. Ou seja, as características físico-químicas das águas receptoras podem influenciar o comportamento e (em especial) a toxicidade das espécies químicas metálicas influenciando as respostas biológicas no sistema. Dependendo das condições ambientais, o metal pode variar a densidade, a diversidade, a estrutura da comunidade e a composição das espécies de populações existentes no ambiente aquático. O grau de variação dependerá amplamente da concentração de metais na água e, igualmente, no sedimento. As mudanças nas características do meio aquático pelo aporte de espécies metálicas antropogênicas podem, pois, provocar efeitos deletérios à biota aquática. Considerando as interdependências entre os organismos aquáticos, estas modificações sempre proporcionam desequilíbrios ecológicos [11].

Metais-traço podem ser persistentes, tóxicos, bioacumulativos e estão cada vez mais presentes em ambientes aquáticos, em função de atividades antrópicas. Em geral, os metais-traço se apresentam em solução, na forma de íons hidratados livres ou complexados por ligantes orgânicos e inorgânicos. Podem ainda estar presente na forma sólida, devido a várias associações com sedimentos ou material particulado suspenso [12].

Os metais diferenciam-se dos compostos orgânicos tóxicos, por serem absolutamente não-degradáveis, de maneira que podem se acumular nos componentes do ambiente, onde manifestam sua toxicidade. No Brasil, é

utilizada a Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005), que fixa os limites máximos de contaminantes nas águas.

Os metais e metalóides surgem nas águas naturais devido aos lançamentos de efluentes industriais, tais como os gerados em indústrias extrativistas de metais, indústrias de tintas e pigmentos e, especialmente, as galvanoplastias, que se espalham em grande número nas periferias das grandes cidades. Além destas, os metais pesados podem ainda estar presentes em efluentes de indústrias químicas, indústrias de couros, peles e produtos similares, indústrias metalúrgicas, lavanderias e indústria de petróleo. Os metais pesados constituem importantes contaminantes químicos nas águas, pois mesmo em pequenas concentrações já trazem efeitos adversos à saúde [13].

A determinação de elementos-traço em água do mar é de grande importância, devido aos aspectos toxicológicos associados à sua presença neste compartimento e em função da possibilidade de bioacumulação e bioamplificação na cadeia alimentar. Apesar de alguns deles serem essenciais aos seres vivos, como ferro, zinco, manganês, cobre, cobalto, molibdênio e boro, atuando em diversos processos fisiológicos, ainda que em baixas concentrações, em altas concentrações geralmente podem ser tóxicos [14]. Outros elementos, como mercúrio, chumbo, cádmio e níquel, não têm função biológica conhecida no organismo humano e, comumente, apresentam toxicidade, inclusive a outros organismos [15]. A toxicidade, no entanto, depende de vários fatores que influenciam a disponibilidade da substância aos organismos, incluindo a sua forma, a taxa de emissão, a sua concentração, transporte, se o organismo está em fase de desenvolvimento e os processos bioquímicos característico de cada organismo.

As legislações ambientais vigentes consideram em termos de qualidade das águas, apenas níveis de concentração de substâncias, ou cátions e ânions, determinados nas próprias águas. Entretanto, estas informações são de escasso valor, devido a alterações a que estão sujeitas, sobretudo considerando a diluição do meio. Os limites de concentração têm interesse prático pra localizar pontos de maior risco em curto prazo e delimitar focos de produção de contaminação.

A química analítica se torna uma ferramenta indispensável no desenvolvimento de métodos que possibilitem a determinação de espécies tóxicas como os metais em baixos níveis de concentração nas águas, possibilitando assim realizar um monitoramento e indicar possíveis fontes de contaminação. Visando uma aplicação mais abrangente, é desejável que esses

métodos sejam simples, baratos, rápidos, sensíveis e precisos para a determinação de metais traço, ao nível de  $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\text{ng L}^{-1}$ , nos mais variados tipos de matrizes.

## 1.2 Arsênio

A presença de As no ambiente abrange uma vasta gama de compostos orgânicos e inorgânicos. A toxicidade e mobilidade deste elemento são dependentes da sua forma química, sendo as espécies mais tóxicas o arsenito (As(III)) e o arsenato (As(V)), que representam as principais formas de As em solos, sedimentos e água [1]. Concentrações típicas de As em águas de mar aberto e mar costeiro estão entre  $1 - 3 \mu\text{g L}^{-1}$  [16-18].

O As é um metalóide, muito quebradiço, cristalino e sob aquecimento oxida-se rapidamente a trióxido de As ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ). Expor-se cronicamente às formas inorgânicas desse elemento pode, em longo prazo, trazer consequências muito graves, pois ele é precursor de diferentes formas de câncer, como pulmonar e de pele [3]. Cerca de  $5 \cdot 10^{-4}\%$  da crosta terrestre é composta de As [3]. Esse elemento é encontrado associado a minérios que contêm sulfeto, ou ligado a metais que tenham sido obtidos destes. Raramente ocorre na forma livre, e geralmente se apresenta em quantidades traço em combinação com os elementos S, O e Fe em rochas solidificadas, carvão, águas doces e marinhas, como também na fauna e na flora terrestre e marinha [4].

O trióxido de As ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) tem uma trágica história relacionada a envenenamentos homicidas e suicidas. A popularidade do seu uso para esses fins estaria muito mais relacionada à sua disponibilidade, ao baixo custo e ao fato de ser inodoro e sem gosto, do que especificamente à sua eficácia tóxica, pois a morte provocada por compostos de As é sempre lenta e dolorosa, diferindo, por exemplo, do cianeto.

O As pode ser lançado na atmosfera tanto por fontes naturais, assim como pela atividade humana, em geral por processos com grande desprendimento de calor, como fundições, usinas geradoras de eletricidade a partir da queima do carvão, incêndios florestais e atividade vulcânica. Processos biológicos, como a biometilação e redução microbiana também contribuem para a carga de As na atmosfera, gerando compostos voláteis de As. O As é lançado na atmosfera principalmente associado a materiais particulados, podendo ser disperso pelos ventos. Quanto ao tempo de permanência do As na atmosfera, a

estimativa é que seja em torno de nove dias, dependendo do tamanho das partículas a que o As esteja agregado e das condições atmosféricas. [19]

A alta toxicidade do As é bem conhecida, pois seus compostos são facilmente absorvidos, tanto por via oral, quanto por inalação, sendo a extensão da absorção dependente da solubilidade do composto. Os frutos do mar são as principais fontes de As na forma de arsenobetaina (forma de baixa toxicidade), enquanto que os grãos apresentam a maior contribuição de As inorgânico. As formas solúveis são absorvidas através das membranas celulares de forma passiva e ativa – esta última utiliza a mesma proteína carreadora do fosfato [20]. Os estudos sobre absorção de metais e metalóides utilizam, em geral, a metodologia de verificar a taxa de recuperação dos elementos ou seus metabólitos na urina ou nas fezes, após ingestão, inalação ou contato dérmico [21].

Alguns compostos de As possuem propriedades citogênicas, mutagênicas e comutagênicas [22], podendo causar ainda, aberrações cromossômicas e danos aos genes. Em águas marinhas, o As ocorre mais comumente na forma de As (III) e As (V), no entanto, havendo a possibilidade de biometilação, esses íons ocorrem junto com MMA (íon monometilarsênico) e DMA (dimetilarsênico). Porém, sabe-se por exemplo, que o arsenito é cerca de 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente (arseniato) [23]. A biometilação, portanto, é uma forma de desintoxicação e em seres humanos acontece nos rins, reduzindo a afinidade do composto para com o tecido [24]. Logo, quando o As é ingerido, será através da urina que ocorrerá a eliminação desse elemento, já na forma metilada. Uma longa exposição ao As pode levar ao aparecimento de diversas doenças, tais como, distúrbios no sistema nervoso, doenças cardiovasculares e inclusive o câncer [25].

A Organização Mundial da Saúde (OMS) [15] estipula como limite máximo de ingestão diária de As de  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  de massa corpórea. Organismos marinhos são considerados os maiores bioacumuladores de As, dada a tendência deste elemento em ser trocado por nitrogênio e fósforo em vários compostos, produzindo outras espécies de As. Dependendo da dieta (i. e, da forma do As), o ser humano pode consumir diariamente cerca de 0,3 mg de As. Em organismos humanos e fluidos corporais normais, a concentração média de As está entre 0,02 e 0,06  $\mu\text{g/g}$ . Sem exposição tóxica a esse elemento, em indivíduos normais, a concentração no sangue está numa média de 0,004  $\text{mg kg}^{-1}$ . As quantidades costumam ser maiores em cabelo, por exemplo, sendo difícil diferenciar o As incorporado daquele depositado exogenamente [3,26]. No

entanto, estudos realizados em autópsias de pessoas sem exposição ocupacional, apenas ingerindo alimentos ou água contaminados por As, mostram que existe tendência a altas concentrações em tecidos com queratina, como cabelos e unhas, e tendência oposta, a pouca deposição e acúmulo, em vísceras, por exemplo [27]. A hierarquia de depósito de As nos órgãos poderia ser definida da seguinte forma: fígado → rins → músculos → coração → baço → pâncreas → pulmões → cérebro → pele → sangue [28].

A presença, a distribuição e as interações do As em águas formam um conjunto mais complexo e dinâmico, de transformações químicas e físicas. Além dos processos biológicos de metilação e redução, o comportamento químico dos derivados de As é influenciado pelo pH e potencial redox do meio, além dos processos de adsorção e dessorção em sedimentos e argilas. Também a flora e a fauna marinha contêm compostos de As, pois este pode ser facilmente confundido com o nitrogênio ou fósforo em vias metabólicas [29].

É sabido, por exemplo, que a produção de água na extração do petróleo corresponde a maior corrente de resíduos dessa indústria e que, em campos de petróleo maduros, o volume de água produzida pode ser bem maior que o volume do óleo produzido [30,31]. Logo, o impacto ambiental da água produzida, tanto *in shore* quanto *off shore*, surge da sua composição química que, ao conter metais, podem torná-la um efluente com alto poder de poluição. Por isso essas águas, altamente salinas, vem recebendo uma grande atenção por parte dos órgãos ambientais. Diante disto, estes efluentes necessitam de um ou mais tratamentos que os faça atender aos padrões de lançamento segundo a Resolução nº 357/2005 do CONAMA (As total  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) [32]. Entretanto, os níveis naturais de As podem ser muito baixos, sendo que, por exemplo, a água do mar não poluída contém concentrações totais de 1 a  $3 \mu\text{g L}^{-1}$ , podendo atingir valores mais elevados, dependendo da geoquímica local ou regional e da atividade antropogênica associada à determinada região [16-18].

### 1.3 Metodologias para determinação de níveis traço de As

A determinação de As tem se tornado objeto de estudo de vários pesquisadores nos últimos anos, com uma atenção cada vez maior sendo dada aos riscos associados à contaminação de ambientes aquáticos. A avaliação de sua biodisponibilidade e de seus efeitos toxicológicos torna o estudo de sua determinação de suma importância em várias áreas [33-36].

Dentre as técnicas de análise mais usadas para a determinação de As estão as de espectrometria atômica (AAS, AFS, ICP-MS), sendo AAS e AFS geralmente associados à geração de hidretos. A análise por ativação neutrônica (NAA), a cromatografia iônica e a espectrometria de fluorescência molecular, também têm sido empregadas na determinação de As em diferentes matrizes [37,38], mas não serão tratadas aqui.

A atomização do As usando chama convencional apresenta algumas dificuldades, devido à forte absorção da chama ar-acetileno em comprimentos de onda abaixo de 200 nm, onde se encontram as linhas mais sensíveis do As [39]. Os valores de LOD pobres em comparação com outros elementos. Esta situação mudou a partir da introdução da técnica de geração de hidretos. Nesta técnica, o arsênio é levado à célula de atomização na forma de arsina, gerada quimicamente, geralmente em uma reação de redução que utiliza como redutor o borohidreto de sódio. A eficiência de transporte do arsênio para os atomizadores é de praticamente 100% (em contraste com 1 a 10% dos nebulizadores pneumáticos), sendo que, no caso da absorção atômica, atomizadores na forma de tubos T, de quartzo, permitem o aumento da densidade da nuvem atômica, do caminho óptico e do tempo de residência e, assim, valores de LOD abaixo de  $\mu\text{g L}^{-1}$  podem ser alcançados [37,40]. Ainda assim, dados os baixos níveis de As na água do mar, a associação HG-AAS apresenta valores de LOD próximos dos limites permitidos, não sendo possível conhecer as concentrações que estão nos extremos mais baixos da faixa de concentração esperada [26]. Há também a possibilidade do uso da geração de hidretos acoplada a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) [37] (in situ trapping) que, além de contornar os efeitos de matriz, melhora os valores de LOD por pré-concentrar uma relativa grande quantidade de arsina no forno, previamente à sua atomização [41,42]. Porém, trata-se de uma técnica muito demorada, difícil de ser empregada para um grande número de amostras. O uso direto da técnica de GF AAS [44-46] permite valores de LOD um tanto mais sensíveis [47] do que aqueles alcançados com o uso da chama [48]; entretanto, no caso da água do mar, com sua matriz complexa e baixos níveis de As [49], alguma diluição é necessária, o que empobrece o LOD frente aos níveis encontrados, e uma etapa de pré-concentração passa a ser necessária, dificultando sua utilização em análise de rotina. De qualquer modo, é também aconselhável o uso do forno transversal, modificadores e corretor Zeeman, a fim de eliminar os sinais de fundo provenientes da matriz [20,43].

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e aspiração pneumática é de utilização rápida e oferece excelentes valores de LOD [50,51]. Porém, para a análise direta de água do mar há limitações pela formação de depósitos salinos e corrosão do skimmer e cone de amostragem, além de oferecer interferências poliatômicas. A diluição da amostra (50 a 100x) e o uso de células de colisão/reação é citado como uma forma de resolver este problema para o As [45,46], podendo-se também recorrer à geração de hidretos [47-49], mas com os custos adicionais de perda da funcionalidade de uma análise multielementar e perda de sensibilidade para outros elementos. Por isso, para realizar análise multielementar em água do mar, ainda prefere-se separar a matriz salina do analito, pré concentrando-os concomitantemente [52,53], principalmente quando se trata de equipamentos com analisadores de íons quadrupolares. [54,55].

Quando se coloca tão somente a determinação de níveis basais de As em água do mar, a técnica de fluorescência atômica associada a geração de hidretos, oferece grandes vantagens em termos de aumento da faixa linear e melhoria de detectabilidade, pois, atualmente, os sinais têm melhorado muito em função da intensidade das lâmpadas empregadas como fontes de excitação. Suas limitações, associadas ao sinal de fundo como o provocado por radiação de corpo negro, dependem dos níveis de impurezas das amostras, mas a separação analito-matriz, inerente à geração de hidretos, minimiza estes problemas na sua associação à fluorescência atômica. A detecção por fluorescência atômica, acoplada à geração de hidretos, oferece grande sensibilidade e especificidade [56] a custo e tempo reduzidos, oferecendo um sistema de detecção atrativo para determinação de As em amostras líquidas em nível de traços [57]. Muitos dos elementos formadores de hidretos, inclusive As, podem ser detectados por espectrometria de fluorescência atômica (AFS) na região do ultravioleta, abaixo de 259 nm. Esta é a região espectral útil, porque somente uma pequena emissão de fundo é observada, quando uma chama mais fria é utilizada. É claro que, para se obter bons limites de detecção, é necessária uma fonte de excitação de alta intensidade de radiação. Esta é, possivelmente, uma das principais razões pela qual a AFS não foi largamente utilizada no passado. Recentemente, lâmpadas do tipo *boosted-discharge hollow cathode* (BHDCL) tornaram-se comercialmente disponíveis e têm se mostrado uma boa fonte de excitação para a AFS [58,59].

Winefordner e Vickers [60] usaram a espectrometria de fluorescência atômica como uma técnica analítica pela primeira vez em 1964, para uma

investigação elementar. Os autores obtiveram bons resultados para alguns elementos se comparados à espectrometria de absorção atômica. Já nessa época eles alcançaram um limite de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  para As em águas naturais.

Em 1985 D'Ulivo [61] determinou As, Se, Sn e Hg em águas naturais e água do mar por HG AFS, usando fluorescência não dispersiva e lâmpadas de descarga sem eletrodos excitadas por radiofrequência.

Ning Li e seu grupo [62] estudaram a determinação de As total em amostras de água, a redução para As III foi realizada com L-cisteína e a determinação por HG AFS. Os analitos foram eluídos utilizando  $1,68 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl e solução redutora de  $\text{KBH}_4$  2,1 % m/v (estabilizado em KOH 0,2% m/v), com consumo de 22 mL da solução da amostra, e o fator de enriquecimento de As III de 25,6. O limite de detecção e o desvio padrão relativo para 11 replicatas foram  $1000 \text{ ng L}^{-1}$  e 2,6%, respectivamente.

Xiu Ping Yan e colaboradores [63] determinaram As III utilizando o sistema de injeção em fluxo on line (FI) e pré concentração de sorção utilizando um reator enovelado (KR) acoplado a um HG AFS, com consumo de solução de amostra de 6 mL e LOD (3s) de  $25 \text{ ng L}^{-1}$  obtido na frequência de amostragem de  $32 \text{ h}^{-1}$  amostras.

Moreda-Pineiro *et al* [64] desenvolveram um método simples com o uso do HG AFS para determinação direta de As em água do mar usando fluxo contínuo com bobina de reação. O método envolve a geração da arsina a partir das amostras diluídas em solução de HCl levadas a concentração final de  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , misturadas com uma solução de redução 3% m/v de  $\text{NaBH}_4$ . Com o procedimento proposto um LOD de  $50 \text{ ng L}^{-1}$  foi alcançado.

Um estudo realizado na Universidade de Valencia – Espanha [65], mostrou o uso de HG AFS para uma especiação não cromatográfica de As III e As V, baseado na medição de padrões e amostras em duas diferentes condições experimentais que permitiu estabelecer um conjunto de duas equações independentes para a análise de cada amostra, a intensidade obtida, em cada caso, sendo proporcional à concentração de As III e As V. As condições escolhidas referem-se a análise direta das amostras e a medição após a redução com KI e ácido ascórbico. Concluindo-se que, a adição de KI estatisticamente, não influencia no sinal de As III e prevê para As V uma sensibilidade comparável com aquela para As III. Por outro lado, os valores do intercepto nas curvas são baixos.

Thompson [66] estudou a determinação de As, Sb, Se e Te por redução com  $\text{NaBH}_4$  e subsequente detecção dos hidretos por AFS, com atomização em

uma chama de hidrogênio-argônio, mantida em um tubo Pyrex, tendo sido a fluorescência atômica produzida por uma lâmpada de descarga sem eletrodos modulada [67]. Tsujii e Kuga [68], determinando As, parecem ter sido os primeiros a relatar o uso de espectrômetros de fluorescência atômica não dispersivos na geração de hidretos. Um fotomultiplicador foi usado, insensível para radiação acima de 360 nm; Zn-HCl foi o sistema redutor e a atomização deu-se em uma chama de hidrogênio-argônio [67]. Nakajara [67,69] determinou As, Bi, Sb, Se e Te fazendo uso de um sistema AFS não dispersivo acoplado com a técnica de geração de hidretos. Na determinação de As, o autor verificou que a chama hidrogênio-argônio leva a uma sensibilidade duas vezes melhor do que a chama de hidrogênio-nitrogênio, em virtude de sua temperatura ser mais alta. Também foi confirmada a melhoria na sensibilidade de, pelo menos, uma ordem de grandeza para os instrumentos não dispersivos em comparação com um sistema dispersivo, quando utilizados na determinação de As, Bi, Se e Te.

Nos últimos anos, o desenvolvimento da geração de hidretos acoplado a AFS tem fornecido um instrumento adequado para determinação simples de alguns elementos. Gómez-Ariza *et al* [70] compararam as técnicas HPLC-ICP-MS e AFS, para análise de especiação de arsênio em amostras de matrizes ambientais e demonstraram que ICP-MS e AFS possuem resultados e desempenhos similares (valores de LOD, reprodutibilidade, sensibilidade e repetitividade). No entanto, a AFS também apresenta as vantagens de ter menores custos de funcionamento, redução do tempo de preparo antes da análise, e fácil manuseio, em comparação com ICP-MS.

#### **1.4 Técnica espectrométrica de detecção: HG AFS**

Por meio da espectrometria atômica é possível fazer a determinação da composição elementar de uma amostra usando seu espectro eletromagnético ou de massa característica. Na espectrometria atômica tem-se a espectrometria de massa e a ótica, esta última, que por sua vez, pode ser baseada nos fenômenos de absorção, emissão espontânea e emissão estimulada (fluorescência de radiação). Espectrometria de massa, em geral, fornece significativamente um bom desempenho analítico, por outro lado é também mais complexa. Essa complexidade se traduz em maiores custos de aquisição, custos operacionais mais elevados e maior treinamento do operador. A espectrometria ótica é geralmente menos cara e tem desempenho adequado para muitas tarefas, sendo também muito comum.

### 1.4.1 Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS)

Dentre as técnicas citadas para determinação de elementos traço, a espectrometria de fluorescência atômica tem recebido relativamente menor atenção. De 1960 a 1970, os métodos de absorção atômica com chama foram a fronteira na determinação de traços. De 1970 a 1980, a espectrometria de emissão atômica com fontes de plasma indutivamente acoplado e de plasma de corrente direta tomaram o lugar do desenvolvimento de ponta. Em 1980, com a formulação do conceito SPTF, a GF AAS reinicia o caminho para atingir o estágio tecnológico atual, enquanto que, na década de 1990, as pesquisas de fronteira na espectrometria atômica para a determinação de traços voltam-se para o ICP-MS.

No entanto, apesar de não ter sua história contada com a mesma ênfase, a técnica de fluorescência atômica oferece grandes vantagens por permitir maior faixa linear dinâmica e menores níveis de detecção, pois atualmente, a sensibilidade tem melhorado muito em função da intensidade das lâmpadas empregadas como fonte de excitação. Limitações ao uso da técnica podem ser em parte pela radiação de fundo, causada por espalhamento da radiação e radiações de corpo negro. Outro problema são os processos de supressão de fluorescência (quenching). Esses problemas estão associados ao ambiente de atomização e a complexidade da matriz da amostra. Daí a vantagem da medição de fluorescência atômica após a geração de hidretos, pois a separação do analito da matriz e o ambiente de atomização de menor ruído permitem melhores sensibilidade e especificidade [56].

O atomizador usado em HG AFS é uma chama de difusão hidrogênio-ar que, rica em radicais H, facilita o processo de atomização dos hidretos gerados. Esse esquema oferece um sistema de detecção atrativo para determinação de arsênio e outros elementos formadores de hidretos voláteis em amostras diversas, em nível de traços [71]. Afortunadamente, estes elementos formadores de hidretos, inclusive o arsênio, devem ser detectados abaixo de 259 nm, região propícia para a espectrometria de fluorescência atômica. É claro que, para se obter bons limites de detecção, é necessária uma fonte de excitação de alta intensidade de radiação, pois o sinal de fluorescência é proporcional à radiação de excitação. Por isto mesmo, além de intensa, a fonte deve ser estável, para que a relação sinal/ruído seja a mais favorável possível. A ausência destas características foi possivelmente, a razão pela qual AFS não foi muito utilizada

no passado. Recentemente, lâmpadas do tipo “boosted-discharge” (BDHCL) tornaram-se comercialmente disponíveis e têm se mostrado uma boa fonte de excitação para AFS.

A AFS é uma técnica de análise elementar que envolve o uso de uma fonte de radiação para excitar átomos livres na forma de vapor a um nível de energia mais alto que o nível fundamental. A excitação dos átomos do analito é seguida por um processo de relaxamento, que envolve a emissão de radiação de fluorescência, de comprimento de onda igual ao fornecido pela fonte, portanto, a energia emitida como radiação fluorescente pela amostra é proporcional a radiação ressonante absorvida por ela, e então:

$$P_F = \Phi P_{abs}$$

onde,  $P_F$  é a potência da radiação emitida como fluorescência,  $P_{abs}$  é a potência da radiação absorvida pela amostra, e  $\Phi$  é a eficiência quântica, parâmetro que indica a eficiência da desativação radiativa em relação ao somatório dos processos de desativação da população de átomos no estado excitado.

Quanto à energia emitida, ela pode ser espontânea (emissão atômica, a qual a excitação ocorre por fonte de calor) ou estimulada (fluorescência atômica, a qual a excitação ocorre por uma fonte de radiação), mas para ambas, deve-se haver antes de tudo, a absorção de radiação. Num balanço energético, tem-se então que, a energia absorvida será emitida tanto espontaneamente como de forma estimulada.

$$P_{abs} = P_{esp} + P_{est}$$

Onde,  $P_{abs}$  é a radiação absorvida,  $P_{esp}$  é a radiação emitida espontaneamente e  $P_{est}$  é a radiação emitida de forma estimulada. Assim, a fim de estabelecer uma relação entre  $P_F$  e o número de átomos fluorescentes que por sua vez pode ser relacionado com a concentração destes na amostra, é necessário considerar apenas o valor da  $P_{abs}$ . Em geral, dado por:

$$P_{abs} = \Omega_A \sum P_{0i} P_{abs(total)i}$$

Onde,  $\Omega_A$  é o ângulo sólido sobre o qual ocorre a excitação,  $P_{0i}$  representa a intensidade incidente para cada linha de absorção que contribui para a excitação e  $P_{abs(total)i}$  representa o fator total de absorção para cada uma dessas linhas.

Essa equação é mais facilmente entendida, quando se considera apenas uma linha de absorção, podendo ser reescrita:

$$P_{\text{abs}} = \Omega_A P_0 P_{\text{abs(total)}}$$

A radiação que parte da fonte de excitação não deve alcançar o detector (geralmente, um fotomultiplicador), e isto é facilitado pela minimização do espalhamento na célula de atomização, pelo uso de filtros adequados e pelo arranjo do equipamento, ao qual a fonte de excitação se encontra a 90° do detector. As aplicações analíticas em AFS empregam transições na região ultravioleta-visível do espectro eletromagnético. A utilização do AFS na análise quantitativa fundamenta-se na relação que pode ser estabelecida entre a intensidade de emissão de fluorescência e a concentração de analito [72].

#### 1.4.1.1 Tipos de fluorescência

Podem ser distinguidas duas regiões segundo a faixa de comprimentos de onda, na qual se situa fluorescência na região de raios X e no UV-Visível. A primeira corresponde á transições de elétrons das camadas mais internas. Na segunda, estão envolvidos elétrons de valência.

A fluorescência atômica pode ser classificada de acordo com os níveis implicados nos processos de excitação e relaxamento. Basicamente, podem-se distinguir 5 tipos de fluorescência (o primeiro como fluorescência ressonante e os outros três como fluorescência não ressonante) (Figura 1) [73].

1. Fluorescência de ressonância, na qual participa um único nível superior e inferior de energia, portanto, o comprimento de onda de absorção é igual ao de emissão.
2. Fluorescência de linha direta, na qual o elétron excitado retorna a um nível de energia superior ao de origem. O comprimento de onda é maior do que o absorvido. O resto de energia pode-se perder por emissão de outro fóton ou por desativação por colisões.
3. Fluorescência em cascata: a absorção é seguida de desativação por colisões até um nível excitado de menor energia e de emissão de radiação de menor energia do que a absorvida. Estas duas últimas são fluorescências de Stokes visto que o comprimento de onda de emissão é maior do que o de excitação.

4. Fluorescência assistida termicamente: o elétron atinge, depois da absorção, outro estado excitado pela excitação não radiante (colisão com espécies energéticas presentes na chama, etc.). No processo de fluorescência retorna-se ao estado fundamental ou a outro de maior energia do que este. O comprimento de onda emitido pode ser menor ou maior do que o absorvido. Se é menor, trata-se de fluorescência anti-Stokes.

5. Fluorescência “sensibilizada”: o átomo excitado depois da absorção, transfere parte ou toda a sua energia a um átomo de distinta natureza, e é este quem emite radiação quando retorna a um estado de inferior energia.

O tipo de fluorescência que tem uma grande aplicação analítica é a fluorescência de ressonância, visto que as probabilidades de transição são maiores e, portanto também se obtém intensidades de fluorescência maiores.

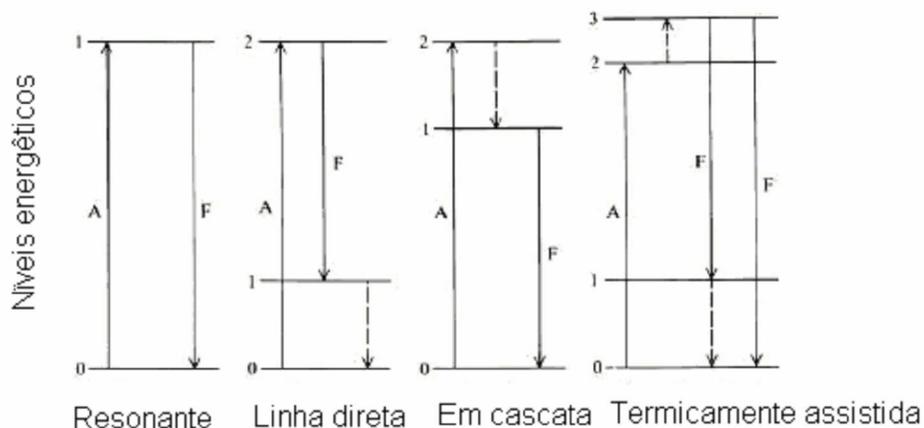


Figura 1. Tipos de fluorescência. [73]

#### 1.4.1.2 Componentes de um espectrômetro de fluorescência atômica

Os componentes básicos de um espectrômetro de fluorescência são (i) uma fonte de radiação para promover a excitação dos átomos que se encontram no atomizador; (ii) o atomizador, que é normalmente, uma chama (podendo também ser um forno de grafite ou um plasma); (iii) um sistema ótico que foca a radiação da fonte no atomizador, de onde a fluorescência é captada, de preferência, num ângulo reto em relação à radiação incidente (ou de excitação) e selecionada em função do comprimento de onda que se pretende medir, sendo esta a radiação que alcança o (iv) detector-fotomultiplicador; daí segue-se o (v)

sistema de tratamento do sinal elétrico, que consiste de um amplificador e um registrador, digital ou analógico. Normalmente, a fonte é modulada eletronicamente e o amplificador trabalha na mesma frequência que a da fonte, para que outras linhas ou bandas procedentes da chama, distintas da fluorescência, não sejam amplificadas e medidas e, portanto não interfiram na medida analítica.

A fonte de radiação é empregada para excitar os átomos presentes na célula atômica e, por ser a intensidade de fluorescência proporcional ao número de átomos excitados, é claramente vantajoso empregar uma fonte de radiação intensa para se obter o máximo sinal de fluorescência. Essas fontes de radiação podem ser classificadas em convencionais e de laser.

As fontes de excitação convencionais mais empregadas são fundamentalmente de dois tipos, fontes contínuas e de linhas. As fontes contínuas mais empregadas são as lâmpadas de alta pressão de xenônio, formadas por um tubo de sílica contendo xenônio a 30 atm e dois eletrodos de tungstênio separados entre si por alguns milímetros, entre os quais se produz a descarga que origina a emissão contínua. Em princípio, as fontes contínuas apresentam algumas vantagens importantes frente às fontes de linhas, já que (i) tornam possível a análise multielementar de forma simples e barata; (ii) não emitem linhas espectrais na região típica de fluorescência atômica e (iii) a emissão é muito intensa na região do visível. Sua intensidade diminui na região do ultravioleta, particularmente em comprimentos de onda menores que 250 nm. Estas são as lâmpadas utilizadas em fluorescência molecular mas, no caso da fluorescência atômica, elas podem provocar interferências espectrais, preferindo-se, então, as fontes de linhas, além de terem uma emissão mais fraca na faixa de interesse.

As fontes de linhas mais empregadas são as lâmpadas de cátodo oco (HCL), lâmpadas de cátodo oco de alta intensidade (HI-HCL) e a lâmpada de descarga sem eletrodos (EDL), ainda que existam outros tipos de lâmpadas. As lâmpadas de cátodo oco convencionais são as mesmas que as desenhadas para a absorção atômica, porém suas intensidades relativamente baixas, não as tornam adequadas para fluorescência. Entretanto, é possível trabalhar em modo pulsado com altas correntes, obtendo-se maior radiância.

Já as lâmpadas de Descarga Sem Eletrodo (EDL) uma pequena quantidade de metal ou sal do elemento a ser analisado é selado num bulbo de quartzo. Este bulbo é colocado dentro de um pequeno gerador de radiofrequência ou driven. Quando uma potência é aplicada, um campo de

radiofrequência é criado. A energia induzida vaporiza e excita os átomos dentro do bulbo causando a emissão do espectro característico. Uma grande vantagem das EDL sobre as HCL é a vida útil. A vida útil das EDL é maior do que a das lâmpadas HCL do mesmo elemento, além de apresentarem melhor desempenho.

Atualmente, encontram-se disponíveis as lâmpadas do tipo Boosted – Discharge Hollow Cathode Lamps (BDHCL), esquematizada na Figura 2, que fornecem intensidades maiores para muitos elementos quando comparadas às lâmpadas normais de cátodo oco, operadas do mesmo modo [72,74]. A lâmpada consiste num anodo localizado na parte posterior de um cátodo cilíndrico. Assim, uma descarga primária incide entre o cátodo e o anodo para excitar os átomos do elemento de interesse, como numa lâmpada de cátodo oco. No entanto, uma descarga auxiliar incide entre o emissor do elétron e o anodo, passando através da nuvem primária, aumentando a intensidade de emissão.

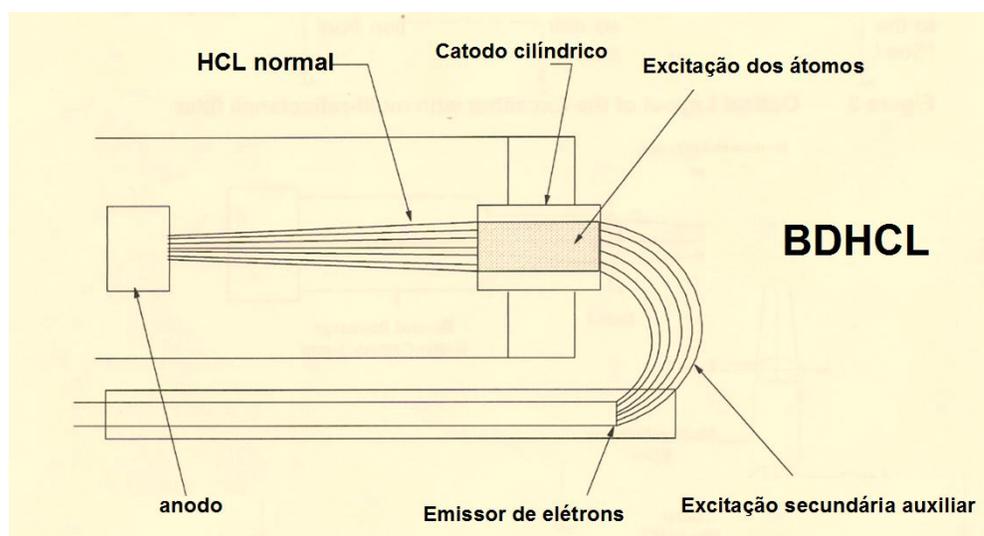


Figura 2: Esquema da lâmpada de cátodo oco com excitação secundária.

A célula de atomização mais empregada em fluorescência atômica é a chama, ainda que, atualmente, a investigação esteja centrada em outros atomizadores alternativos, como fornos, filamentos e plasmas. Chamas usuais, como ar acetileno ou óxido nitroso acetileno impõem dificuldades para o relaxamento radiativo, por facilitarem processos não radiativos, dada sua alta temperatura, que aumenta a probabilidade de interação entre os átomos excitados e espécies presentes na chama. Felizmente, os hidretos covalentes voláteis podem ser atomizados em chamas ar-hidrogênio mais frias, a partir de

mecanismo que envolve os radicais H, presentes nesta chama. Devido à sua menor temperatura, os processos de relaxamento não radiativo são desfavorecidos, aumentando-se a probabilidade de fluorescência. Quase que exclusivamente, para a atomização dos hidretos, as chamas de difusão argônio/hidrogênio ou nitrogênio/hidrogênio têm sido utilizadas. O gás auxiliar inerte e o hidrogênio liberado na reação de redução podem ser carreados para tais chamas, sem alterar significativamente as características de combustão.

A detecção da radiação se realiza mediante tubos fotomultiplicadores. A amplificação do sinal pode ser feita por um sistema de corrente contínua; porém o sistema de corrente modulada é melhor, pois se obtém melhores relações sinal/ruído.

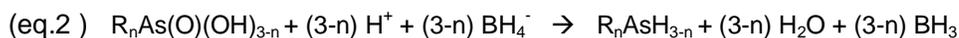
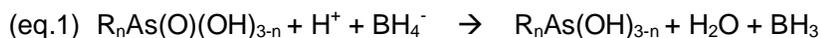
Ainda que em AFS se tenha investigado mais sobre as melhorias na instrumentação do que sobre suas reais aplicações, há um constante aumento nas aplicações analíticas da técnica, sendo possível a determinação de mais de 40 elementos, em distintos tipos de amostras [72,74]. As etapas mais críticas na análise por fluorescência atômica, prévia à atomização dos hidretos são o pré-tratamento da amostra, e o controle das interferências na reação de redução, entre eles os relativos ao efeito do estado de oxidação do analito no sinal analítico.

#### **1.4.2 Geração de hidreto (HG)**

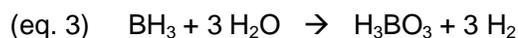
O hidreto pode ser gerado através do uso de diferentes agentes redutores, classificados de maneira geral como: redutores metálicos em meio ácido ou borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) em meio ácido. A redução por metal/ácido emprega geralmente Zn/HCl, sendo adequada para a formação da arsina ( $\text{AsH}_3$ ), porém essa abordagem apresenta um elevado tempo de reação (cerca de 10 min), que diminui a frequência analítica e dificulta a automação do sistema. Além disso, as reações com metal/ácido apresenta muitas desvantagens, pois o Zn só serve para determinar As, Sb e Se; o metal granulado geralmente apresenta impurezas, elevando os sinais do branco e apenas uma parte (cerca de 8%) do analito que se transforma em hidreto é determinada [75,76].

A redução dos analitos a seus hidretos se realiza habitualmente com  $\text{NaBH}_4$  em duas etapas. Na primeira, o elemento é reduzido, se for o caso, de seu estado de oxidação 5+ a seu estado 3+ (6+ a 4+, no caso do Se) e, na

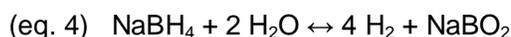
segunda, dá-se a geração do hidreto correspondente. No caso do As, por exemplo:



O borano gerado por estas reações hidrolisa-se, dando como produtos o ácido bórico e o hidrogênio gasoso [75].



O NaBH<sub>4</sub> decompõe-se imediatamente em condições ácidas, e daí sua solução deve ser preparada em meio alcalino, com NaOH, para que se estabilize a fim de se evitar a hidrólise do NaBH<sub>4</sub> como se observa na seguinte reação:



Com a utilização da solução de NaBH<sub>4</sub>, a formação dos hidretos é imediata e sua liberação da solução pode variar entre 10 a 30 s. Geralmente, essa solução é preparada em meio alcalino de modo a estabilizá-la, o que a torna mais eficiente e pode ser obtida uma maior reprodutibilidade associada à reação em meio homogêneo e com cinética mais definida. A concentração do agente redutor deve ser otimizada para o elemento de interesse, assim como para o sistema de geração química de vapor utilizado. Várias concentrações de NaBH<sub>4</sub> são recomendadas (0,5 - 10,0% m/v para sistemas em batelada ou de 0,1 - 1,0% m/v para sistemas em fluxo), estabilizadas em KOH ou NaOH entre 0,1 - 2,0% m/v.

Pode-se, assim produzir os hidretos voláteis de um grande número de elementos, além de se ter uma maior reprodutibilidade, pois o meio se apresenta mais homogêneo e a velocidade da reação é maior. Geralmente, a solução de NaBH<sub>4</sub> é adicionada à solução acidificada da amostra. Para arrastar o hidreto formado, faz-se passar uma corrente de gás inerte através da solução, em um separador gás-líquido, além do que, o hidrogênio gerado na reação auxilia no carreamento do hidreto volátil para fora da solução.

A geração do hidreto pode ser realizada de três maneiras: através do sistema em batelada, em fluxo contínuo (CF) ou por sistemas de injeção em fluxo (FI).

A etapa seguinte à geração do hidreto, é o transporte dos vapores gerados para o atomizador. Dedina e Tsalev [77] dividiram os processos de transporte em dois modos: a transferência direta e a coleta. No modo de transferência direta, as espécies voláteis são transportadas diretamente para o atomizador. No modo de coleta, as espécies voláteis são retidas em um coletor para posteriormente serem liberadas e transportadas até o atomizador.

Além do comportamento diferenciado dos elementos formadores hidretos frente a reação de redução em função de seus diferentes números de oxidação, formas organosubstituídas apresentam também um comportamento diferente na redução pelo borohidreto, como por exemplo, a arsenobetaína, a arsenocolina e o tetrametilarsênio, que não formam hidretos, enquanto outras, como o MMA e DMA, podem produzir sinais de intensidade diferente, no entanto, sempre menor do que a do arsenito.

A maior parte dos elementos capazes de formar hidretos (como o As, Sb, Se e Te) pode existir em diferentes estados de oxidação. A formação do hidreto depende deste estado, visto que unicamente se formam de maneira quantitativa e rápida a partir do estado de oxidação III (As, Sb) ou IV (Se, Te) e, portanto, para determinar os conteúdos totais é necessário reduzi-los previamente. O Bi não precisa de uma etapa de pré-redução, pois o estado (V) é metaestável, portanto, ele se encontra sempre como Bi(III). O  $\text{NaBH}_4$  é capaz de reduzir o As(V) e o Sb(V), mas a velocidade da reação de redução é mais lenta do que a de formação do hidreto, obtendo-se um menor sinal (em altura) do que para as espécies reduzidas correspondentes. Por exemplo, a eficiência na geração da arsina a partir do As(V) está na faixa de 65 - 67%. Já o MMA forma um hidreto monometilado ( $\text{AsH}_2\text{CH}_3$ ), enquanto que o DMA forma um hidreto dimetilado  $\text{HAs}(\text{CH}_3)_2$  [74]. A eficiência na atomização é maior para a arsina do que para os hidretos metilados, o que explica o menor sinal do MMA e DMA.

Já os hidretos do selênio ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) e de telúrio ( $\text{H}_2\text{Te}$ ) só se formam a partir das espécies reduzidas: o Se (VI) e Te (VI) são menos reativos frente ao  $\text{NaBH}_4$  e não se reduzem a Se (IV) e Te (IV). Nem mesmo o HCl concentrado é capaz de reduzi-los quantitativamente, o que torna indispensável o uso de uma etapa de pré-redução eficiente. A redução do selênio é favorecida com o aumento da temperatura e com o aumento da concentração do HCl; no entanto, as condições ótimas dependem do tipo de cada amostra e da forma de pré-tratamento da

mesma. A pré redução do Se (VI) a Se (IV), utilizando HCl e Br<sup>-</sup> pode ser realizada em condições mais suaves, embora também seja necessário um aquecimento acima de 50 °C durante aproximadamente 15 min. [78,79]. O KI é um agente redutor largamente utilizado na redução de Sb(V), As (V) e MMA além de evitar a interferência devida ao I<sup>3-</sup>. O papel redutor do KI (Figura 3) se vê reforçado pela presença do ácido ascórbico, visto que o iodeto se regenera continuamente pela oxidação do ácido citado.

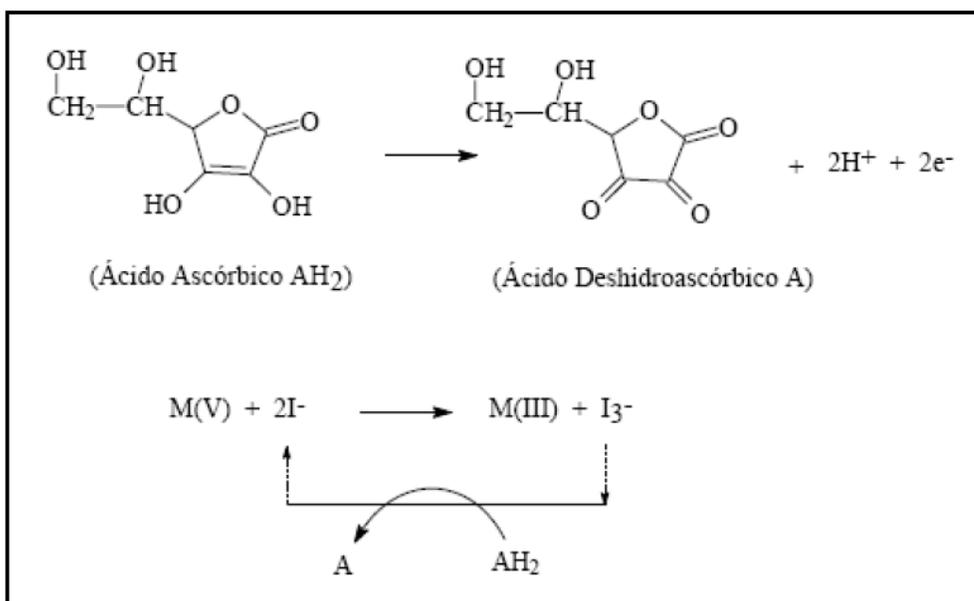


Figura 3: Reações redox do sistema M (V)/KI/ácido ascórbico, sendo M= As (v) ou Sn (V). [80]

As principais vantagens de se empregar a geração química de hidretos são:

- O aumento da eficiência de transporte para o atomizador, podendo chegar a 100% e com um vapor homogêneo;
- O analito é separado da matriz, o que resulta na melhora da precisão e diminuição de interferência;
- A seletividade aumenta devido à redução significativa dos interferentes;
- Os limites de detecção (LOD) são melhorados, satisfazendo os interesses para estudos de elementos traço e estudos ambientais;
- A automação dos sistemas pode facilmente ser alcançada;
- Dependendo do sistema utilizado a pré-concentração do analito é viável;
- Possibilidade de estudo de especiação com acoplamento de diferentes

técnicas.

Entretanto, algumas limitações da técnica podem ser citadas, como: (i) a suscetibilidade a interferências por concomitantes existentes na solução de amostra, que podem impedir a reação de geração química de vapor, ou a sua purga eficiente do vaso de reação; (ii) a cinética da geração de vapor pode ser afetada por vários fatores físicos associados à solução (densidade, viscosidade, volume, etc.) de tal modo, que em alguns casos, pode ser necessário um dispositivo de coleta do vapor antes da introdução das espécies no atomizador para compensar essas influências; (iii) o pH e as concentrações dos reagentes podem ser críticos para alguns elementos e (iv) os estados de oxidação ou a forma do analito podem afetar as medidas [76].

#### **1.4.2.1 Interferências**

Conforme já apontado, a geração de hidreto, por implicar na separação do analito da matriz, tende a ser um método de introdução de amostras que minimiza interferências que poderiam ocorrer na produção do sinal atômico do analito de interesse. Entretanto, elas são encontradas, e estão relacionadas às diferentes fases do processo, ou seja, à reação de geração e liberação do vapor da solução (interferências de fase condensada), ao transporte do vapor (interferências na fase gasosa), e mesmo, em alguns casos, no próprio processo de atomização/medição (interferências na fase gasosa e interferências espectrais). Na sequência, serão consideradas as interferências relativas à geração de hidretos, utilizando-se  $\text{NaBH}_4$  como redutor.

#### **1.4.2.2 Interferências na fase condensada**

As interferências em fase condensada são as que ocorrem no vaso de reação, dentro da solução ou na interface solução/fase gasosa. Envolvem os processos de formação do hidreto e/ou de sua liberação da solução, neste caso devido a variações na taxa de liberação do hidreto (interferência na cinética de liberação). Podem envolver, ainda, a não disponibilização do hidreto pela presença de uma substância concomitante que o retenha ou modifique. Como são relativas ao processo de geração e liberação do vapor formado, são independentes do método posterior de detecção e, assim, as discussões que se seguem são válidas para sistemas HG-AAS, HG-ICP-MS, HG-AFS, etc.

Em relação às interferências na cinética de redução sabe-se, por exemplo, que As, Sb, Se e Te podem existir, em solução, em dois estados de oxidação: As(III)/As(V); Sb(III)/Sb(V); Se(IV)/Se(VI) e Te(IV)/Te(VI) e que estados de oxidação mais altos apresentam velocidade de redução mais lenta. No caso do grupo 15 da tabela periódica (As, Sb e Bi), o estado +5 leva a sinais analíticos menores que o estado +3. Quanto ao grupo 16 (Se e Te), o estado +6 não leva a sinal perceptível, sendo imperativo proceder à redução prévia ao estado de oxidação +4, antes da determinação da espécie química em questão [76,77]. Mesmo para o grupo 15 (As e Sb), a redução prévia tem sido utilizada, sendo os pré-redutores mais comuns o KI [79], o NaI [80], o KBr [81] e misturas de KI e ácido ascórbico [82]; SnCl<sub>2</sub> [83] ou aquecimento da amostra em HCl 4 a 5 mol/L também têm sido sugeridos. De modo similar, o Te(VI) 6 mol/L, por 10 a 20 min [84,85]. Por outro lado, estas propriedades distintas dos diferentes estados de oxidação são úteis na especiação química, permitindo, por exemplo, determinações seletivas de As(III) e As(V), Sb(III) e Sb(V) e Se(IV) e Se (VI), calculando a diferença do sinal analítico total desejado exclusivo de uma das espécies.

Além da possibilidade de diferentes números de oxidação, os elementos formadores de hidretos podem existir ligados a diferentes radicais orgânicos, seja em amostras ambientais ou biológicas. Como estas diferentes formas podem apresentar distintas cinéticas de redução, faz-se necessário liberar o analito completamente destes radicais para a determinação do seu conteúdo total. Esta liberação é feita durante a digestão da amostra, especialmente por procedimentos que utilizam aquecimento assistido por microondas [86]. De modo análogo, estes comportamentos distintos podem ser utilizados para as determinações de diferentes formas dos elementos formadores de hidretos em amostras biológicas e ambientais. O procedimento envolve geração de hidretos, a partir dos derivados orgânicos e inorgânicos do elemento em questão, com o NaBH<sub>4</sub>, e coleta destes hidretos em armadilha de nitrogênio líquido. Subsequentemente, as várias espécies de hidretos são separadas por volatilização seletiva/cromatografia e alcançam o atomizador em tempos distintos, dando sinais sucessivos de absorvância, cada qual relativo a uma espécie. Deste modo, é possível a especiação desses vários elementos por AAS. Outra possibilidade é controlar a redução pelo ajuste das condições do meio reacional, quando diferentes espécies são reduzidas em valores específicos de pH [87].

Interferências cinéticas também se relacionam à liberação do hidreto formado, do seio da solução para a fase gasosa. Por exemplo, em sistemas em batelada, sinais distintos são obtidos para diferentes volumes de solução no frasco de reação, com maiores volumes apresentando sinais relativamente mais largos e de menor altura. Outra possibilidade é a formação de espuma em determinados tipos de amostra, o que também concorre para a mudança na cinética de liberação dos hidretos em solução e, conseqüentemente, na forma do sinal de absorvância. Este tipo de interferência pode ser contornado pelo uso de anti-espumantes, sejam eles alcoóis de cadeia carbônica longa ou substâncias à base de silicone.

### 1.4.2.3 Interferências na fase gasosa

Estas interferências podem ocorrer no volume morto do frasco de reação, na linha de transporte ou no atomizador, e se manifestam imediatamente (se observada simultaneamente com a geração do interferente) ou por um efeito de memória (se persistir após cessar a geração do interferente). Dois grupos de interferências podem ser distinguidos: as “interferências de transporte”, que ocorrem ao longo do transporte do hidreto, já liberado da solução, para o atomizador, causando atraso (interferência na cinética de transporte) e/ou perdas (interferência na eficiência de transporte); no segundo grupo estão as interferências que se dão no processo de atomização, e relacionam-se ao mecanismo de atomização. Neste grupo estão as chamadas interferências mútuas dos elementos formadores de hidretos. O excesso de um outro elemento formador de hidreto termina por levar à queda do sinal analítico do elemento que se deseja analisar. Este tipo de interferência pode ser interpretado de dois modos: o interferente faz cair a concentração dos radicais H no interior do atomizador, ou acelera o decaimento dos átomos livres do analito no atomizador, via reações analito-interferente, que podem resultar na formação de moléculas diatômicas estáveis, tais como AsSb.

Outro tipo de interferência que pode ocorrer, denominada quenching, nada mais é do que um processo de relaxamento que não leva a emissão de fótons, resultando, assim, na redução da intensidade de fluorescência. Há uma variedade de mecanismos que envolvem perda de energia não radiativa e frequentemente estão associados a espécies com elétrons desemparelhados ou muito polares. O quenching resulta da transmissão de energia para outra espécie química (denominada aceitador), fisicamente próxima átomo excitado,

em ressonância com ele (transferência de energia fluorescente por ressonância, (FRET – fluorescence resonance energy transfer). No caso da geração de hidretos, um dos modos de se evitar esta interferência é impedir que espécies causadoras de quenching alcancem o atomizador. Por exemplo, é fundamental para uma boa sensibilidade em HG-AFS, uma secagem eficiente do hidreto proveniente do separador gás-líquido, de modo a impedir que o vapor d'água alcance a célula de atomização.

#### 1.4.2.4 Interferências espectrais

Na espectrometria atômica, a interferência espectral ocorre quando o detector interpreta um sinal, que não do analito, como se dele fosse. Podem ser, primeiramente, ocasionadas pela presença de espécies atômicas que absorvam ou emitam radiação no mesmo comprimento de onda que o analito (sobreposição de linhas atômicas). Este tipo de interferência é muito raro na absorção e fluorescência atômicas em geral, e os casos existentes são bem conhecidos e não se aplicam à geração de hidretos. No caso da emissão atômica, pela riqueza em linhas do espectro gerado, este tipo de interferência é mais comum mas, caso ela seja precedida da geração química de vapor, o analito é separado da matriz e o problema é contornado. Uma possibilidade mais frequente na absorção atômica é a presença de espécies moleculares ou partículas (presentes pela atomização incompleta da matriz) no caminho ótico, que também atenuem a radiação primária. No caso da geração de hidretos, essas interferências são usualmente insignificantes, devido à separação do analito da matriz. Na atomização em chama de difusão, absorção de fundo acontece devido a variações na transparência da chama, que podem ocorrer quando o hidreto é purgado para o atomizador. Por exemplo, um fundo estruturado, devido ao oxigênio molecular, mostrou ser responsável pela absorção de fundo presente na linha do selênio (196,0 nm).

Em resumo, as interferências mais importantes na fluorescência atômica com geração de hidretos devem-se, fundamentalmente, à inibição parcial ou total da formação ou liberação dos hidretos voláteis da fase líquida. Estas interferências devem-se à existência de reações competitivas entre a formação/liberação dos distintos hidretos da fase líquida, com outros possíveis processos. Entre eles está a adsorção dos hidretos gerados sobre a superfície de partículas coloidais de metais precipitados, formados concomitantemente

durante a redução pelo borohidreto, envolvendo fundamentalmente metais de transição, tais como o Cu, Ni, Co e o grupo da Pt.

#### 1.4.2.5 Controle e eliminação de interferências

Muitos métodos têm sido desenvolvidos para eliminar ou minimizar as interferências, em especial as interferências em fase condensada, por sua vez as mais importantes. Uma das abordagens mais simples faz uso do aumento da acidez da solução e/ou do controle da concentração do reagente redutor [88-90]. Welz e Schubert-Jacobs [89], por exemplo, observaram que, elevando a concentração do HCl de 0,5 para 5 mol/L, podem ser toleradas maiores razões interferente/analito na determinação de As e Se, na presença de Ni, Co e Cu, e que a diminuição da concentração do redutor de 3 para 0,5% m/v também permite maiores razões interferente/analito, com exceção para interferência do Cu no sinal do Se, onde o efeito é menos pronunciado em concentrações maiores do redutor. Além do controle da acidez e da concentração do redutor, inúmeros procedimentos de separação do interferente têm sido propostos, tanto em batelada [91], como em linha [92].

Mais atraente do que a separação do interferente, parece ser a neutralização da ação interferente pela adição de um agente mascarante. Vários destes agentes são sugeridos, como por exemplo, o uso de EDTA em amostras biológicas com interferentes tais como Fe, Cu e Co, o uso de L-cisteína para determinação de As em amostras de cobre e aço, entre outros. Deve-se destacar os agentes quelantes que se mostram eficientes mesmo em meio bastante ácido, e que não necessitam do uso de soluções tampão, que podem causar, com matrizes complexas, a desvantagem de reações paralelas indesejáveis.

Além da adição de agentes quelantes, outro tipo de reagente pode ser adicionado à solução: são as espécies que agem controlando o potencial do meio reacional, permitindo a formação do hidreto, mas não deixando que o potencial de redução do interferente seja alcançado. Ou seja, são espécies cujo par redox não interfere, e com potencial de redução situado entre aquele relativo à redução do analito a hidreto e aquele da redução do íon interferente à sua forma metálica.

## **1.5 Objetivos**

Este trabalho tem por objetivo desenvolver um método de determinação de As em água do mar por HG AFS.

### **1.5.1 Objetivos específicos**

- Otimizar um método para determinação direta de As em água do mar pela técnica de HG AFS.
- Aplicar a metodologia desenvolvida a amostras de água oceânica coletadas da costa brasileira.